

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Toxicología y Legislación Sanitaria



TESIS DOCTORAL

Evaluación de los efectos del remifentanilo en la electrofisiología cardíaca
en condiciones de bloqueo autonómico

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Raúl Sevilla Bayón

Directores

Matilde Zaballos García
M^a José Anadón Baselga
Jesús Almendral Garrote

Madrid, 2018

AUNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA Y LEGISLACIÓN SANITARIA



**Evaluación de los efectos del remifentanilo en la
electrofisiología cardiaca en condiciones de bloqueo
autonómico.**

Estudio en un modelo experimental porcino

TESIS DOCTORAL

RAÚL SEVILLA BAYÓN

MADRID, 2017

DIRECTORES:

Dra. MATILDE ZABALLOS GARCÍA

Dra. M^a JOSÉ ANADÓN BASELGA

Dr. JESÚS ALMENDRAL GARROTE

DIRECTORES DE LA TESIS:

DRA. MATILDE ZABALLOS GARCÍA

PROFESORA ASOCIADA DE CIENCIAS DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE MEDICINA LEGAL Y TOXICOLOGÍA

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

DRA. M^a JOSÉ ANADÓN BASELGA

PROFESORA TITULAR

JEFE DE DEPARTAMENTO DE MEDICINA LEGAL Y TOXICOLOGÍA

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

JESÚS ALMENDRAL GARROTE

PROFESOR TITULAR

UNIVERSIDAD SAN PABLO CEU DE MADRID

DIRECTOR DEL CENTRO DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

GRUPO HM HOSPITALES, MADRID

Dña. **MATILDE ZABALLOS GARCÍA**, profesora asociada del Departamento de Toxicología y Legislación Sanitaria de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, Dña. **Mª JOSÉ ANADÓN BASELGA**, profesora Titular y Directora del Departamento de Toxicología y Legislación Sanitaria de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, Dn. **JESÚS ALMENDRAL GARROTE** profesor Titular del departamento de Ciencias Médicas Clínicas de la Facultad de Medicina de la Universidad San Pablo CEU y Director del Centro Integral de Enfermedades Cardiovasculares (CIEC) del Grupo HM Hospitales (Madrid).

CERTIFICAN: Que Dn. Raul Sevilla Bayón, ha realizado bajo nuestra dirección y asesoramiento el presente trabajo titulado: **“Evaluación de los efectos del remifentanilo en la electrofisiología cardiaca en condiciones de bloqueo autonómico. Estudio en un modelo experimental porcino”**, el cual consideramos que reúne las condiciones y la calidad científica deseadas para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Y para que así conste, expedimos el presente informe en Madrid a veintitrés de marzo de dos mil diecisiete.

Fdo: M. Zaballos García

Fdo: M.J. Anadón Baselga

Fdo: J Almendral Garrote

AGRADECIMIENTOS

A Matilde, por su trabajar infatigable, entusiasmo y tesón.

A Jesús, por su sabiduría y clarividencia.

A María José, por su pragmatismo y por acogerme bajo su dirección.

A mis compañeros Olalla, David, Ramiro y Arturo, por lograr hacer cortas las largas horas de trabajo.

A Marta, Alicia, y a todo el equipo del Instituto Experimental, por su buena disposición, ayuda y grata compañía.

A Nuria, mi hermana, por su conocimiento en lenguas no vernáculas.

DEDICATORIA

A mis padres, de quien aprendí la constancia y la aplicación con gusto a las ocupaciones; y a saber obrar con independencia y libertad de espíritu.

A mis pacientes, principio rector de mi motivación, causa de turbación y satisfacción, y objetivo de todos mis esfuerzos.

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	15
RESUMEN, SUMMARY.....	19
INTRODUCCIÓN.....	27
JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	33
HIPÓTESIS.....	39
OBJETIVOS.....	43
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	47
1. 1.SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO	49
1.1.1.GENERALIDADES.....	49
1.1.2. ANESTESIA Y SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO.....	63
1.1.3. ENFERMEDADES SISTÉMICAS ASOCIADAS A ALTERACIÓN DE LA FUNCIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO.....	65
1.1.4. MODELOS ANIMALES Y BLOQUEO AUTONÓMICO.....	67
1.2. REMIFENTANILO.....	69
1.2.1. FARMACOLOGÍA BÁSICA.....	70
1.2.2. FARMACOCINÉTICA DEL REMIFENTANILO.....	71
1.2.3. FARMACODINAMIA DEL REMIFENTANILO.....	74
1.2.4. PRECAUCIONES EN EL EMPLEO DEL REMIFENTANILO.....	80
1.3. ELECTROFISIOLOGÍA CARDIACA.....	81
1.3.1. ESTUDIOS ELECTROFISIOLOGICOS, CONCEPTOS ESENCIALES..	81
1.3.2. ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA CARDIACA.....	85
1.3.3. FUNCIÓN SINUSAL.....	89
1.3.4. SISTEMA DE CONDUCCIÓN AV.....	97
1.3.5. REFRACTARIEDAD.....	102
1.3.6. CONDUCCIÓN INTRAVENTRICULAR.....	111
1.3.7. DEFINICIONES.....	112
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	115
2.1. LEGISLACIÓN.....	117
2.2. PROTOCOLO DE ESTUDIO DEL BLOQUEO AUTONÓMICO EN EL CERDO.....	118
2.2.1. MATERIAL.....	118
2.2.2. MÉTODO.....	120

2.2.2.1.PROTOCOLO DE BÚSQUEDA DE LA DOSIS DE ATROPINA Y PROPRANOLOL Y BLOQUEO AUTONÓMICO EN EL CERDO: DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA CARDIACA INTRÍNSECA.....	125
2.2.2.2. PROTOCOLO DE ESTUDIO DE LA DURACIÓN DEL BLOQUEO AUTONÓMICO SIMPÁTICO EN EL CERDO.	127
2.2.2.3.PROTOCOLO DE ESTUDIO DE LA DURACIÓN DEL BLOQUEO AUTONÓMICO PARASIMPÁTICO EN EL CERDO.....	129
2.3. PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DEL REMIFENTANILO EN LA ELECTROFISIOLOGÍA CARDIACA EN CONDICIONES DE BLOQUEO AUTONÓMICO.....	135
2.3.1. MATERIAL.....	135
2.3.2 MÉTODO.....	137
2.4. GRUPO CONTROL	141
2.5. DESCRIPCIÓN DE LOS PROTOCOLOS DE ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO.....	143
2.6 DESCRIPCIÓN DE LOS PARÁMETROS Y MEDIDAS ELECTROFISIOLÓGICAS.....	144
2.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO MUESTRAL	147
3. RESULTADOS.....	149
3. 1. RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO DEL BLOQUEO AUTONÓMICO EN EL CERDO	152
3.1.1. RESULTADOS ANESTÉSICOS.....	152
3.1.2. RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE BÚSQUEDA DE LA DOSIS DE ATROPINA Y PROPRANOLOL Y BLOQUEO AUTONÓMICO EN EL CERDO: DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA CARDIACA INTRÍNSECA.....	155
3.1.3. RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO DE LA DURACIÓN EL BLOQUEO AUTONÓMICO SIMPÁTICO EN EL CERDO.....	157
3.1.4. RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO DE LA DURACIÓN DEL BLOQUEO AUTONÓMICO PARASIMPÁTICO EN EL CERDO.....	164
3.1.5. TABLAS DE RESULTADOS INDIVIDUALIZADOS. ESTUDIO DEL BLOQUEO AUTONÓMICO EN EL CERDO.....	172
3. 2. RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO DEL REMIFENTANILO EN CONDICIONES DE BLOQUEO AUTONÓMICO	174
3.2.1. RESULTADOS ANESTÉSICOS.....	174
3.2.2. RESULTADOS ELECTROFISIOLÓGICOS.....	177
3.3 RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO EN EL GRUPO CONTROL: BLOQUEO AUTONÓMICO SIN REMIFENTANILO.....	183
3.3.1. RESULTADOS ANESTÉSICOS.....	183

3.3.2. RESULTADOS ELECTROFISIOLÓGICOS.....	185
4. DISCUSIÓN.....	187
4.1. ESTUDIO DEL BLOQUEO AUTONÓMICO.....	189
4.2. ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO DEL REMIFENTANILO EN CONDICIONES DE BLOQUEO AUTONÓMICO	209
4.2.1. REMIFENTANILO Y FUNCIÓN DEL NODO SINUSAL.....	210
4.2.2. REMIFENTANILO Y FUNCIÓN DEL NODO AV.....	216
4.2.3. REMIFENTANILO Y FUNCIÓN DEL SISTEMA HIS-PURKINJE.....	220
4.2.4. REMIFENTANILO Y REFRACTARIEDAD AURICULAR Y ENTRICULAR	221
4.3. GRUPO CONTROL.....	225
4.4. IMPLICACIONES CLÍNICAS.....	226
5. LIMITACIONES	234
6. CONCLUSIONES.....	235
7. BIBLIOGRAFÍA.....	239

LISTADO DE ABREVIATURAS

A: adrenalina
AH: intervalo aurícula-haz de His
ASI: actividad simpática intrínseca
BHE: barrera hematoencefálica
DM: diabetes mellitus
EEF: estudios electrofisiológicos
FC: frecuencia cardíaca
FCI: frecuencia cardíaca intrínseca
HTA: hipertensión arterial
HTP: hipertensión pulmonar
HV: intervalo His-Purkinje
IAM: infarto agudo de miocardio
ICC: insuficiencia cardíaca congestiva
LCS: longitud ciclo sinusal
NA: noradrenalina
PREAD: periodo refractario efectivo aurícula derecha
PRENAV: periodo refractario efectivo nodo atrio-ventricular
PREVD: periodo refractario efectivo ventrículo derecho
PW: punto Wenckebach
SNA: Sistema nervioso autónomo
SNC: Sistema nervioso central
TCSA: tiempo de conducción sinoauricular
TRNS: tiempo de recuperación del nodo sinusal
VFC: variabilidad de la frecuencia cardíaca

RESUMEN

SUMMARY

TITLE

Effects of remifentanil on the cardiac electrophysiologic system under pharmacologic autonomic blockade. Study in an experimental porcine model

BACKGROUND

Remifentanil is a selective μ -opioid receptor agonist with an analgesic potency similar to that of fentanyl. Because of remifentanil's rapid systemic elimination, with a half-life of 8–10 min, it has pharmacokinetic advantages in clinical situations where a rapidly titratable potent opioid effect is desirable with a predictable offset of action without prolonged respiratory depression.

The haemodynamic response to remifentanil has been extensively studied and is characterized by decreases in arterial pressure, cardiac output, and systemic vascular resistance. In contrast, despite some clinical reports of severe remifentanil-associated bradyarrhythmias including asystole, little information is available regarding its cardiac electrophysiological effects.

Cardiac electrophysiological studies have shown severe depression in sinus and atrio-ventricular nodes function. Those effects are reversed with administration of anticholinergic drugs.

Thus, it seems the influence of autonomic nervous system is crucial causing bradyarrhythmias due to remifentanil.

On the other hand, there are studies that propose a direct effect on cardiac electrophysiological system, despite doses are not clinically relevant.

The aim of this study was to characterize the effects of remifentanil under autonomic blockade on the electrophysiological properties of normal cardiac structures, using a standard intracardiac electrophysiological approach in a closed-chest porcine model with minimal instrumentation. Our hypothesis was that depressant effect of remifentanil on the cardiac conduction system, is mediated by autonomic nervous system.

METHODS

In the first instance, we developed an autonomic blockade porcine model, that was used afterwards to perform the electrophysiological study under autonomic blockade.

Blockade of cardiac autonomic nervous activity was established by an intravenous injection of 0.25 mg/kg propranolol and 0.04 mg/kg atropine. The heart rate after blockade was defined as the *intrinsic heart rate* (IHR).

Repeat half-dose of propranolol was necessary to maintain the intensity of sympathetic blockade each 20 minutes, assessed by the administration of isoproterenol.

We kept the intensity of parasympathetic blockade repeating the same dose of atropine each 105 minutes .

Nine mini-pigs were investigated in the study group and other four in the control group. The animals were premedicated with ketamine 20 mg kg⁻¹ i.m., this is the appropriate dose recommended for swine sedation before percutaneous cannulation of superficial vessels. Ten minutes after premedication, the pigs were provided with oxygen 100% via a facial mask, and a 20 G cannula was inserted into an ear vein, and anaesthesia was induced by injection of propofol (4.5 mg kg⁻¹). To minimize pharmacological interaction and eliminate possible confounding factors affecting electrophysiological effects of remifentanyl, no neuromuscular blocking agents or other sedative medications were administered during the entire course of the study. After intubation, the animal was connected to a volume-controlled ventilator (Engström Respirator ER-300, LKB, Medical AB, Switzerland). Anaesthesia was maintained with sevoflurane at 1 minimum alveolar concentration (MAC). Intermittent positive-pressure ventilation was used during the procedure with pure oxygen, and a ventilatory frequency intended to maintain normocapnia. All animals received an infusion of saline solution of 8 ml. kg⁻¹.h⁻¹.

The anaesthesia depth was assessed closely with physiological variables (heart rate and arterial pressure) and with evaluation of reflexes (palpebral and corneal), lacrimation, and spontaneous movements. Adequate anaesthesia was

considered if the animal had stable physiological parameters, as arterial pressure and heart rate and unresponsiveness to painful stimuli during femoral vessels cannulation and cardiac stimulation.

After instrumentation and a stabilization period, an electrophysiological evaluation under autonomic blockade was performed(basal protocol). After, remifentanyl was administered as a bolus of $1 \mu\text{g kg}^{-1}$ followed by an infusion of $0.5 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$, followed by another electrophysiological study(remifentanyl protocol).

Analogously, we performed the same experimental design in a control group, using saline infusion instead of remifentanyl.

Electrophysiological measurements included:

- i. Sinus cycle length (SCL)
- ii. Sinoatrial conduction time (SACT): the time taken for a sinus node impulse to conduct through the sinus node complex to the adjacent atrial tissue. It was estimated by Narula's method.¹³
- iii. Sinus node recovery time (SNRT): the time required for return of spontaneous sinus node activity after rapid atrial pacing. Rapid pacing was performed as 30 s pacing trains starting at a cycle length 50 ms less than the SCL and decreasing the paced cycle length by 50 ms intervals until a cycle length of 250 ms was reached. A 1 min resting period was allowed between pacing trains.
- iv. Corrected sinus node recovery time (CSNRT): the difference between SNRT and basic SCL.
- v. Atrioventricular (AV) nodal effective refractory period (AVNERP): the longest coupling interval at which atrial extrastimuli fail to conduct to the His bundle area, measured at the atrial electrogram closest to the AV nodal area.
- vi. Wenckebach cycle length (WCL): the longest atrial paced cycle at which 1:1 atrio-His conduction is lost

- vii. Right atrial effective refractory period: the longest coupling interval of a premature atrial impulse after an 8-beat pacing train not resulting in a propagated response. It was determined with two different paced cycle lengths.
- viii. Right ventricular effective refractory period: the longest coupling interval of a premature ventricular impulse after an 8-beat pacing train not resulting in a propagated response. It was determined with two different paced cycle lengths.
- ix. AH interval: the time interval from the onset of the atrial electrogram in the His bundle area to the onset of the His deflection. It was measured during sinus rhythm and during atrial pacing at a paced cycle length of 400 ms.
- x. HV interval: the time interval from the onset of the His bundle deflection to the onset of ventricular activation.
- xi. QT interval: the QT interval was measured during sinus rhythm and corrected to rate (QTc interval) using Bazett's formula. The QT interval was also measured during ventricular pacing.

Statistical analysis

All values were expressed as mean and standard deviation (SD). Haemodynamic data and blood gas analysis were presented and compared at the end of each electrophysiological evaluation. After testing for normal distribution with Kolmogorov–Smirnov, significant changes between values for the ‘basal protocol’ and the ‘remifentanil protocol’ were evaluated by Student's *t*-test for paired data. Statistical significance was defined as $P < 0.05$. All statistical analyses were performed with the SPSS-20 software package.

RESULTS

The mean animal weight was 33.5 kg. Haemodynamic data, blood gas analyses, and electrolytes were stable during the experiment.

Sinus node and AV nodal function

There was a little but significant increase SCL (by 7%) (i.e. a decrease in heart rate), while the rest of the electrophysiological parameters of sinus node function remained unchanged.

Remifentanil under autonomic blockade conditions didn't significantly prolonged specialized AV conduction times: AH interval increased by 20% during SR, WCL also increased by 8%; both parameters changes on the borderline of statistical significance. HV interval and AV nodal refractoriness remained unchanged.

Atrial, His-Purkinje, and ventricular function

Remifentanil had no significant effects on the atrial refractory period. It did not have significant effects on the mean HV interval. However, remifentanil significantly prolonged ventricular refractoriness at the shorter paced cycle length and the QT interval. However, it had no significant effect on the ventricular refractoriness at longer paced cycle length; nor on the corrected QT interval.

Control group

There were no significant changes in all electrophysiological parameters in the control group.

CONCLUSIONS

Our study demonstrated that remifentanil under autonomic blockade condition did not affect in significant way most of the electrophysiological parameters concerning sinus node function, AV node function, His-Purkinje system nor myocardial refractoriness; despite of severe depression at sinus node and AV node function caused by remifentanil when is administrated with the intact autonomic nervous system influence.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

El control del dolor durante la cirugía se concibe actualmente como un elemento indispensable de la práctica de la anestesia. Muy lejos de los comienzos de la cirugía, donde muchos cirujanos consideraban que el dolor era una consecuencia inevitable de la intervención quirúrgica. El empleo de los opioides intravenosos como parte de la anestesia se popularizó durante las primeras décadas tras la Segunda Guerra Mundial. Entonces comenzaron a utilizarse técnicas anestésicas en las que los opioides eran combinados con otros agentes intravenosos en el denominado “coctel lítico” o en la modalidad denominada neuroleptoanalgesia, asociados a agentes neurolépticos como el haloperidol y el droperidol. En el año 1960 se sintetizó el *fentanilo*, seguido por otros opioides como el *sufentanilo* y *alfentanilo* generalizándose su administración en la práctica habitual de la anestesia general. La descripción del *remifentanilo* por primera vez fue en 1990, pero su utilización clínica se generalizó en 1996. (Toski JA et al., 2001; Fukuda K, 2015)

Los fármacos opioides proporcionan antinocicepción y forman parte esencial de la anestesia moderna. Pueden ser utilizados de forma aislada o en combinación con otros agentes como los sedantes y agentes anticolinérgicos como parte de la premedicación preanestésica. Durante el periodo de inducción de la anestesia, los opioides son utilizados con el objetivo de prevenir la respuesta hemodinámica a la maniobra de intubación orotraqueal. Intraoperatoriamente los opioides son administrados como componentes de la anestesia balanceada, incluso durante años se utilizaron en altas dosis en la anestesia de la cirugía cardíaca “anestesia opioide”, si bien esta práctica actualmente está en desuso. En la anestesia general actual no se concibe el uso exclusivo de opioides ya que son fármacos que no producen hipnosis incluso en altas concentraciones y se combinan con fármacos hipnóticos, bien intravenosos como el propofol o bien inhalatorios como el sevoflurano, isoflurano y desflurano. Durante el mantenimiento de la anestesia general los opioides son titulados en función del efecto deseado basándose en el estímulo nociceptivo quirúrgico así como en las características individuales del paciente,

como la edad, situación de la volemia, estado neurológico, función hepática y renal entre otros (Coda BA, 2001, Fukuda K, 2015).

Los opioides en las dosis utilizadas habitualmente producen analgesia conservando la estabilidad hemodinámica. Sin embargo pueden provocar bradicardia, en general de forma dosis dependiente, probablemente tanto por mecanismos simpaticolíticos como parasimpaticomiméticos (Coda BA, 2001). Así mismo se han descrito asistolias tras la administración de opioides, especialmente cuando se han asociado a estímulos vagales como la laringoscopia o a fármacos como la succinilcolina (Wang JY et al.,1998; Rivard JCy Lebowitz PW, 1988; Egan TD y Brock-Utne JG,1991; Taylor B y MacEwen P, 1989).

Si bien la incidencia de bradiarritmias graves perioperatorias que precisan tratamiento es escasa, cuando ocurren, producen inestabilidad circulatoria que precisa de un manejo y tratamiento inmediato. En un estudio multicéntrico en el que se incluyeron 17.021 pacientes sometidos a anestesia general, la incidencia de bradiarritmias graves se situó en torno al 0,4% (Forrest J et al., 1990; Forrest J et al., 1992). Estas alteraciones del ritmo durante la anestesia pueden ser secundarias a una enfermedad cardiovascular asociada, a la presencia de otras enfermedades sistémicas, a la alteración del sistema nervioso autónomo o a los efectos de los fármacos administrados de forma concurrente durante el procedimiento anestésico.

Los pacientes con enfermedad cardiovascular como miocardiopatía dilatada, con afectación de la función diastólica o en tratamiento con fármacos beta bloqueantes o calcioantagonistas pueden presentar un deterioro hemodinámico muy importante como consecuencia de dichas bradiarritmias.

La prevención y tratamiento de las bradiarritmias y de los trastornos de la conducción asociadas al uso de opioides, dependerá en gran medida del conocimiento y estudio de cómo estos agentes influyen en las propiedades eléctricas del corazón. En general, ninguno presenta en las dosis clínicas habituales, propiedades depresoras de la conducción y del automatismo per se, pero todos ellos pueden contribuir a la aparición de bradiarritmias, como resultado de sus efectos centrales y periféricos en el sistema nervioso autónomo, unido a las interacciones que desarrollan con otros fármacos.

Otro aspecto de gran interés que justifica el conocimiento de las acciones electrofisiológicas de los opioides, es en el caso de los enfermos con vías accesorias, síndromes de preexcitación o pacientes pediátricos que precisan de la realización de estudios electrofisiológicos (EEF) diagnósticos y de tratamiento mediante técnicas de ablación con radiofrecuencia para el control definitivo de las arritmias. Dichos procedimientos, en ocasiones de gran complejidad y duración, de forma no infrecuente precisan de la administración de fármacos sedantes, analgésicos y en determinadas poblaciones como en pacientes pediátricos, discapacitados y adultos con especial fragilidad, de la realización de una anestesia general. La necesidad del control del dolor durante la realización del EEF en especial en la población pediátrica hace que se recomiende la asociación de un opioide con un anestésico general. En estas circunstancias, si los fármacos que nosotros administramos modifican las propiedades electrofisiológicas del sistema de conducción normal o la refractariedad de las vías accesorias pueden confundir la interpretación de los estudios de ablación y determinar el éxito o fracaso de la técnica (Gomez-Arnau J et al., 1983; Sharpe MD et al., 1992; Sharpe MD et al., 1994; Sharpe MD et al. 1999).

El remifentanilo es el último de los agentes opioides introducido en la práctica anestésica. Presenta una farmacocinética especial debido a la introducción de un grupo metil-éster en la cadena N-acil del anillo de piperidina que permite su hidrólisis por esterazas inespecíficas y por tanto una eliminación rápida con el cese de sus efectos. Esto permite obtener un bloqueo máximo del estímulo doloroso preservando una extubación precoz y sin el riesgo de apnea secundaria en la recuperación. Conseguidas estas características ideales, se ha convertido en uno de los opioides más utilizados actualmente en la práctica clínica (Angst MS, 2015). Sin embargo su empleo no está exento de efectos adversos cardiovasculares que han sido reflejados en diversas publicaciones e incluso se ha descrito la aparición de asistolia tras su uso. (DeSouza G et al., 1997; Reid JE et al., 2000; Elliott P et al., 2000, Kurdi O et al., 2001).

Estas acciones del remifentanilo en la conducción cardíaca fueron constatadas en un estudio electrofisiológico transesofágico realizado previamente (Fattorini F et al., 2003). Sin embargo, los estudios electrofisiológicos transesofágicos aunque son de gran utilidad, presentan serias limitaciones, debido al restringido

número de parámetros que pueden ser evaluados. Este hecho motivó que, nuestro grupo de investigación profundizara en el estudio de los efectos electrofisiológicos del remifentanilo y constató que la asociación de remifentanilo y propofol inducía un efecto depresor intenso de la función sinusal y nodal en comparación con el propofol aislado en un modelo experimental porcino (Zaballos M et al., 2004). Siguiendo con la misma línea de investigación mostramos que la asociación del remifentanilo con otro agente anestésico químicamente diferente, el sevoflurano, inducía acciones similares en la electrofisiología cardíaca (Narciso B et al., 2014).

Sin embargo, las acciones electrofisiológicas encontradas a nivel sinusal y en la conducción auriculoventricular pudieron ser debidas a diversos factores como: la influencia del remifentanilo en el sistema nervioso autónomo, una supuesta acción directa del fármaco sobre el nodo sinusal, liberación de histamina con efecto a nivel miocárdico, o a una acción sinérgica o aditiva como consecuencia de su asociación con los fármacos anestésicos administrados de forma concomitante como el propofol o el sevoflurano.

En nuestro conocimiento no hay estudios que hayan evaluado los efectos electrofisiológicos del remifentanilo en condiciones de bloqueo autonómico.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Las características esenciales del remifentanilo como su rapidez de inicio y finalización de su acción lo convierten en un analgésico especialmente útil en la práctica anestésica. Es un fármaco ideal para su uso en perfusión continua, ya que permite dar una respuesta rápida sin el riesgo de acúmulo de dosis.

Sin embargo, como se ha referenciado previamente, diferentes estudios clínicos han mostrado que la administración de remifentanilo induce, en determinadas circunstancias, alteraciones cardiovasculares intensas con enlentecimiento grave de la frecuencia cardiaca acompañado de hipotensión, e incluso de mayor gravedad como episodios de parada cardiaca (DeSouza G et al., 1997; Kurdi O et al., 2001).

Estas alteraciones en la actividad eléctrica y en la contractilidad miocárdica provocadas por el remifentanilo, se han descrito en diferentes intervenciones incluyendo la cirugía de revascularización coronaria. En esta particular situación clínica se requiere de una gran estabilidad hemodinámica, que debe mantenerse en todo el proceso perioperatorio para disminuir la morbilidad del paciente.

Estudios previos han reportado una mayor incidencia de eventos hemodinámicos con el uso de remifentanilo cuando los pacientes estaban tomando de forma concomitante fármacos como los agentes beta-bloqueantes (DeSouza G et al., Dershwitz M et al., 1995), bloqueantes de los canales del calcio (Dershwitz M et al., 1995), o inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECAS). Los efectos adversos observados se han relacionado con otros factores como el modo de administración del fármaco (Reid JE y Mirakhur RK, 2000; Elliot P et al., 2000), disminuyendo su incidencia cuando se inyecta lentamente frente a la infusión rápida en bolo. La estimulación vagal intensa que acompaña a algunas intervenciones, (Wang JY et al., 1999) potenciaría el efecto del remifentanilo. El empleo habitual de fármacos durante la anestesia, con un conocido efecto bradicardizante, como algunos relajantes musculares como el vecuronio, potencia la aparición de estas bradiarritmias. Los opiáceos como el remifentanilo no tienen propiedades hipnóticas incluso en altas concentraciones ya que no provocan inconsciencia, y de forma típica se administran durante la anestesia asociados a otros fármacos hipnóticos. Estos

agentes hipnóticos, así mismo poseen efectos en la electrofisiología cardíaca. Por ello, es especialmente interesante y de gran relevancia clínica el conocimiento de los efectos de la utilización conjunta del remifentanilo asociado a otros agentes anestésicos empleados de forma concomitante.

El envejecimiento de la población, hace muy elevada la probabilidad de que los pacientes estén en tratamiento con algún fármaco con efecto en la actividad eléctrica del corazón, y que además precisen de alguna intervención quirúrgica. En estos enfermos son indudables las ventajas farmacocinéticas del remifentanilo, sin embargo, el conocimiento de la seguridad en su administración, por sus acciones en el sistema de conducción cardíaco, nos facilitaría una utilización más precisa del fármaco.

Los mecanismos por los que el remifentanilo presenta acciones adversas de bradiarritmias en la práctica clínica, pueden ser coincidentes con los descritos con otros opioides, aunque las observaciones clínicas sugieren que sus efectos cronotrópicos negativos son más intensos (Sebel PS et al., 1995; Shinohara K et al., 2000; Saeki T et al., 1995).

Algunos estudios incluso han observado que la acción parasimpaticolítica de la atropina no previene en su totalidad el efecto cronotrópico negativo del remifentanilo, proponiendo por tanto un efecto cronotrópico negativo directo del fármaco (Tirel et al., 2005; Shinohara et al., 2000).

Estas acciones del remifentanilo en la conducción cardíaca como se ha referido previamente, fueron constatadas parcialmente en un estudio electrofisiológico transesofágico realizado previamente (Fattorini F et al., 2003).

Con posterioridad, nuestro grupo de investigación profundizó en el estudio de los efectos del remifentanilo en las propiedades eléctricas cardíacas, desarrollando un modelo experimental porcino que permitiera dicha investigación. Nuestros hallazgos mostraron que el remifentanilo inducía un efecto intenso depresor de la función sinusal y nodal tanto cuando se utilizaba con propofol (Zaballos M et al., 2004), como con el anestésico inhalatorio sevoflurano (Narciso B et al.;2014).

Estos hallazgos sugerían varias alternativas: por un lado un posible efecto de sinergismo del remifentanilo con los agentes hipnóticos evaluados (propofol y sevoflurano), una acción independiente y directa del fármaco, o finalmente un mecanismo indirecto mediado por una modulación del remifentanilo en el sistema nervioso autónomo.

En nuestro conocimiento ningún estudio ha evaluado las acciones cardiacas del remifentanilo en condiciones de bloqueo del sistema nervioso autónomo. Estas consideraciones justifican la presente tesis en la que pretendemos comprobar si los efectos observados del remifentanilo en la electrofisiología cardiaca se reproducen en condiciones de bloqueo del sistema nervioso autónomo realizado mediante la administración de atropina y propranolol.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS

En virtud de las consideraciones previas atribuidas al remifentanilo, proponemos las siguientes hipótesis:

1. Que el remifentanilo asociado al bloqueo del sistema nervioso autonómico deprime la función sinusal.
2. Que el remifentanilo asociado al bloqueo del sistema nervioso autonómico deprime la conducción auriculo-ventricular.
3. Que el remifentanilo asociado al bloqueo del sistema nervioso autonómico no afecta el sistema His-Purkinje
4. Que el remifentanilo asociado al bloqueo del sistema nervioso autonómico no afecta la refractariedad auricular ni ventricular.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

Los objetivos de esta tesis doctoral se pueden resumir en los siguientes puntos:

- Conocer la dosis de los fármacos bloqueantes del sistema nervioso autónomo (atropina y propanolol) que producen bloqueo autonómico en un modelo experimental porcino.
- Conocer la duración del bloqueo autonómico simpático en el presente modelo experimental porcino.
- Conocer la duración del bloqueo autonómico parasimpático en el presente modelo experimental porcino
- Evaluar los efectos del remifentanilo asociado a bloqueo autonómico en los parámetros electrofisiológicos de valoración de la conducción eléctrica del corazón:
 - Evaluar los efectos del remifentanilo asociado a bloqueo autonómico en la electrofisiología de la función sinusal.
 - Evaluar los efectos del remifentanilo asociado a bloqueo autonómico en la electrofisiología de la función del nodo AV.
 - Evaluar los efectos del remifentanilo asociado a bloqueo autonómico en la electrofisiología del sistema His Purkinje.
 - Evaluar los efectos del remifentanilo asociado a bloqueo autonómico en la refractariedad auricular y ventricular.
- Establecer las consideraciones clínicas y de seguridad en la utilización del remifentanilo.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO

1.1.1 GENERALIDADES

El sistema nervioso autónomo (SNA) se encarga de controlar las respuestas involuntarias de nuestro organismo, manteniendo la correcta homeostasis y preparándolo para actitudes o respuestas completas. Es un sistema de vital importancia, y se puede ver preservado en todas las especies de mamíferos.

Se divide, a su vez, en dos sistemas, el sistema nervioso simpático y el sistema nervioso parasimpático. El primero es el encargado de activar las respuestas secundarias a estímulos de estrés, preparando al organismo para la conocida como respuesta de lucha o huida. El segundo se encarga de mantener la homeostasis y funcionalidad de los órganos nobles.

Numerosas situaciones clínicas, en las cuales se pueden englobar tanto patologías como la diabetes, insuficiencia renal crónica, cirrosis, vasculopatía periférica, enfermedad de Parkinson entre otras, así como pacientes sometidos a tratamientos crónicos como betabloqueantes o antagonistas del calcio pueden alterar el normal funcionamiento del SNA.

Por otro lado, el SNA, también se va a ver influenciado por la administración de fármacos anestésicos, siendo de vital importancia conocer que efectos son derivados de la supresión de dicho sistema y cuales se deben a la acción intrínseca de los fármacos. (Glick DB, 2015; Lawson NW y Johnson JO, 2001)

ANATOMÍA DEL SNA

El sistema nervioso *Simpático* se origina en la médula espinal a nivel toracolumbar, desde el último segmento cervical hasta el segundo o tercer segmento lumbar, y por regla general los ganglios se encuentran alejados de los órganos efectores. Estas fibras se extienden hasta tres tipos de ganglios, que podemos clasificar en: 22 ganglios emparejados, situándose a ambos lados de los cuerpos vertebrales, cuyas fibras postsinápticas se agrupan formando los plexos terminales cardíacos, esofágicos y pulmonares; ganglios y

plexos no emparejados, en posición anterior a la columna vertebral, que son los ganglios celíacos, plexos mesentéricos y aórticorrenales; y los ganglios terminales o colaterales, en este caso próximos a los órganos diana, por ejemplo en el caso de la médula suprarrenal. Figura 1.

Las fibras preganglionares pueden atravesar varios ganglios antes de hacer sinapsis, y dichas sinapsis las pueden realizar en ganglios situados en segmentos diferentes a los que se originan. Por tanto, las fibras procedentes de un segmento espinal van a sinaptar a distintos niveles una vez en órganos diana. De la misma forma, y en sentido inverso, un órgano e incluso una misma célula pueden ser inervados por fibras procedentes de distintos segmentos medulares. De esta manera se obtiene una respuesta simpática amplificada y difusa, que no se limita al segmento donde se produce el estímulo.

El sistema nervioso *parasimpático* se origina en los pares craneales II, VII, IX y X, y en los segmentos sacros. Los ganglios se encuentran próximos a sus órganos diana, haciendo que la respuesta sea mucho más específica que la producida por el sistema simpático. Figura 1.

El nervio vago es, entre los que conducen fibras parasimpáticas, el más importante y significativo. Se encarga de la inervación parasimpática del corazón, árbol traqueobronquial, hígado, bazo, riñón y tracto gastrointestinal.

Las fibras preganglionares, que parten del bulbo raquídeo, meséncéfalo y segmentos sacros de la médula espinal, sinaptan con las fibras postganglionares muy cerca del órgano diana, estando situados los ganglios sobre las vísceras y a su alrededor. Sus respuestas son, por tanto, específicas y concretas, debido a que en la mayoría de los casos la sinapsis entre los nervios parasimpáticos y las células efectoras se realizan en una relación 1:1, con la notable excepción del plexo de Auerbach, cuya relación es 1:8000. (Glick DB, 2015; Lawson NW y Johnson JO, 2001)

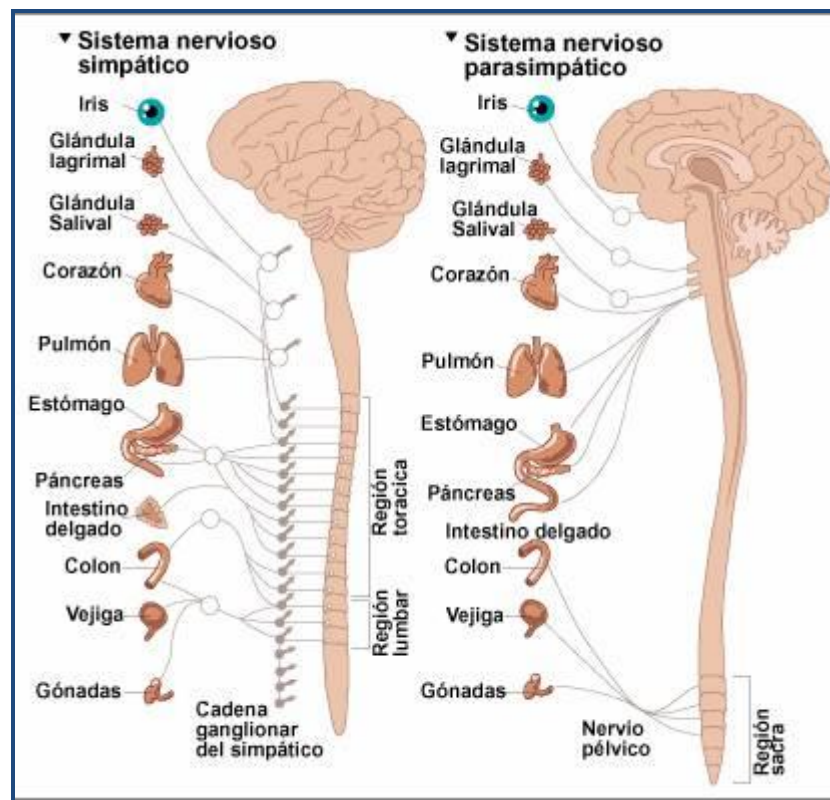


Figura 1: Esquema anatómico del Sistema Nervioso Autónomo

NEUROTRANSMISIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO

La transmisión del estímulo excitatorio a través de la hendidura sináptica ocurre mediante liberación de neurotransmisores que, actuando sobre los receptores localizados en los diferentes órganos terminales, provocan una respuesta biológica. Los neurotransmisores del sistema nervioso simpático y parasimpático son fundamentalmente la noradrenalina (NA) y la acetilcolina (AC).

Las fibras secretoras de NA se denominan adrenérgicas y las que secretan AC, colinérgicas. Todas las neuronas preganglionares, tanto las del sistema nervioso simpático como las del parasimpático, son colinérgicas. Las neuronas postganglionares del sistema nervioso parasimpático también son colinérgicas. En cambio, las neuronas postganglionares simpáticas son adrenérgicas y

secretan NA, excepto las de las glándulas sudoríparas y una minoría de vasos sanguíneos que son colinérgicas. Las neuronas postganglionares de la médula suprarrenal secretan fundamentalmente adrenalina (A) y escasa cantidad de NA.

La dopamina también se considera un neurotransmisor adrenérgico, ya que es un precursor en la síntesis de NA y A, aunque actúa sobre receptores diferentes.

Existen por otro lado diferentes neurotransmisores relacionados con la transmisión nerviosa en el sistema nervioso autónomo diferentes a la NA y AC como el óxido nítrico, el péptido intestinal vasoactivo, la adenosina trifosfato, el neuropéptido Y, la serotonina, entre otros con diferentes funciones e interacciones con el SNA. (Glick DB, 2015; Lawson NW y Johnson JO, 2001)

FUNCIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO

Tanto el sistema nervioso simpático como el sistema nervioso parasimpático mantienen una actividad constante que se conoce como tono simpático y tono parasimpático. Ello permite que en un momento dado, la actividad de cada uno de estos dos sistemas pueda aumentar o disminuir.

El tono simpático mantiene en condiciones normales a casi todos los vasos sanguíneos constreñidos hasta aproximadamente la mitad de su diámetro máximo. Si aumenta la actividad simpática se producirá una vasoconstricción adicional, y en cambio si hay una disminución de la actividad simpática se producirá una vasodilatación. El tono simpático y parasimpático depende de la actividad de los centros superiores del troncocerebral; una parte del tono simpático resulta de la secreción basal de NA y A por la médula suprarrenal.

Tabla 1. Balance homeostático entre el sistema nervios simpático y parasimpático

Órgano	Respuesta Adrenergica	Respuesta Colinergica
Corazón Cronotropismo Inotropismo	Aumenta Aumenta	Disminuye Disminuye
Vasos sanguíneos Arterias Musculo Esqueletico Venas	Vasoconstricción Vasodilatación Vasoconstricción	
Arbol Bronquial	Broncodilatación	Broncoconstricción
Cápsula esplénica	Contracción	
Útero	Contracción	Variable
Vasos deferentes	Contracción	
Tracto Gastrointestinal	Relajación	Contracción
Ojo Músculo radial iris Músculo circular iris Músculo ciliar	Contracción (midriasis) Relajación	Contracción (miosis) Contracción(acomodación)
Riñón	Secreción renina	
Vejiga urinaria Detrusor Trígono y esfinter	Relajación Contracción	Contracción Relajación
Uréter	Contracción	Relajación
Liberación pancreática de insulina	Disminuye	
Células grasas	Lipolisis	
Glicogenolisis hepática	Aumenta	
Folículo piloso, músculo liso	Contracción (piloerección)	
Secreción nasal	Disminuye	Aumenta
Glandulas salivares Glandulas sudoríparas	Aumento secreción Aumento secreción	Aumento secreción Aumento secreción

Modifiacdo de: Glick DB. The autonomic nervous system. En Miller'S Anesthesia. Miller RD editor. Filadelfia. Elsevier Saunders; 2015. p 346-386

RECEPTORES ADRENÉRGICOS

Las catecolaminas endógenas son agonistas de los receptores alfa(α) y beta(β) adrenérgicos. La adrenalina posee actividad tanto alfa como beta agonista, mientras que la noradrenalina posee una mínima actividad β 2-receptora.

La mediación de los receptores alfa producen contracción del músculo liso en los territorios con inervación simpática, incluyendo el sistema vascular, el árbol traqueobronquial, el uréter y el músculo ciliar del ojo. Así mismo, produce contracción de los esfínteres en los tractos gastrointestinal y genitourinario, y disminuye la liberación de insulina del páncreas con el estímulo de los receptores α 2 pancreáticos.

Los receptores β 1 son los responsables fundamentales de la inervación simpática del corazón y del aumento de la secreción de renina, mientras que los receptores β 2 lo son de la relajación del músculo liso vascular y bronquial, y de diversos efectos metabólicos. Sin embargo, los receptores β 2 también pueden mediar la actividad cardíaca. Así mismo, la hipertensión crónica tiene implicado en su patogenia el aumento de la secreción de renina. (Tabla 2)

Tabla 2. Diferenciación de los receptores adrenérgicos

Receptor	Estimulación	Inhibición
Alfa		
Corazón		
Vasos sanguíneos	Vasoconstricción(piel, intestino, riñón, hígado, corazón)	
Tracto gastrointestinal	Esfínteres	
Tracto genitourinario	Esfínteres	
Efectos metabólicos y endocrinos		Liberación de insulina
Beta		
Corazón	(1) Frecuencia, conducción, contractilidad	
Vasos sanguíneos		(2) Vasodilatación (músculo esquelético, corazón, cerebro)
Respiración	(?) Centro respiratorio (2) Broncodilatación	
Tracto gastrointestinal		(2) Músculo liso
Tracto genitourinario		(2) Músculo ureteral y uterino
Efectos metabólicos y endocrinos	(2) Glucogenólisis (músculo, hígado) (1) Lipólisis (2) Gluconeogénesis (1) Liberación de insulina (?) Liberación de renina (?) Liberación de ADH	

(1): regulada por receptores β_1 ; (2): regulada por receptores β_2 ; (?): dudosa.

Modificado de: Glick DB. The autonomic nervous system. En Miller'S Anesthesia. Miller RD editor. Filadelfia. Elsevier Saunders; 2015. p 346-386

RECEPTORES COLINÉRGICOS

Como ya se ha referido anteriormete, una de las características diferenciales del sistema parasimpático es la especificidad de sus respuestas, de inducir efectos funcionalmente más localizados, frente a la descarga difusa del sistema simpático.

El sistema parasimpático se encarga de mantener la homeostasis y funcionamiento de los órganos internos. Es pues, necesario para la supervivencia y mantenimiento de la vida.

La activación del sistema parasimático produce liberación de acetilcolina, cuyo efectos son opuestos a los de la adrenalina y noradrenalina, y cualitativamente los mismos que los de una estimulación vagal.

La acetilcolina disminuye la frecuencia cardíaca, la velocidad de conducción de los nodos sinoauricular, aurículoventricular (AV), y la contractilidad auricular. En el nodo sinoauricular la acetilcolina produce hiperpolarización de la membrana celular, enlenteciendo la frecuencia cardíaca al retrasar el potencial umbral. En el nodo AV enlentece la conducción y aumenta el periodo refractario efectivo. En el ventrículo eleva el umbral de fibrilación mediante la disminución del automatismo de la red Purkinje.

La estimulación colinérgica induce contracción del músculo liso en el árbol traqueobronquial. Aumenta el peristaltismo de los tractos gastrointestinal y genitourinario, aunque relaja los esfínteres. Produce miosis del iris y estimulación de todas las glándulas, aumentando su secreción: lagrimal, traqueobronquial, salival, digestivas y exocrinas. (Glick DB, 2015; Lawson NW y Johnson JO, 2001)

FARMACOLOGÍA DEL SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO SIMPÁTICO

Adrenalina

La adrenalina activa todos los receptores adrenérgicos, α_1 , α_2 , β_1 , β_2 y β_3 . Así pues, entre sus efectos se encuentran el inotropismo, cronotropismo e incremento de la conducción cardíaca (β_1); relajación del músculo liso en la vascularización y el árbol bronquial (β_2); y vasoconstricción (α_1).

Se utiliza de forma i.v., en bolo o en perfusión, dependiendo la dosis de la indicación y la urgencia. (Tabla 3)

Tabla 3. Acciones dependientes de la dosis de los agentes inotrópicos y cronotrópicos

Fármaco	Receptores	Velocidad de infusión
Adrenalina	β_2	1-2 $\mu\text{g}/\text{min}$
	$\beta_1 + \beta_2$	2-10 $\mu\text{g}/\text{min}$
	α_1	$\geq 10 \mu\text{g}/\text{min}$
Noradrenalina	$\alpha_1, \beta_1 \gg \beta_2$	4-12 $\mu\text{g}/\text{min}$
Dopamina	Dopaminérgicos	0-3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$
	β	3-10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$
	α	$> 10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$
Dobutamina	$\beta_1 \gg \beta_2, \alpha$	2,5-10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$
Isoproterenol	$\beta_1 > \beta_2$	0,5-10 $\mu\text{g}/\text{min}$
Amrinona???	Aumentan el AMP mediante inhibición de la fosfodiesterasa	Carga de 0,75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en 2-3min e infusión 5-10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$

Modificado de: Glick DB. The autonomic nervous system. En Miller'S Anesthesia. Miller RD editor. Filadelfia. Elsevier Saunders; 2015. p 346-386

Noradrenalina

Al igual que la adrenalina, la noradrenalina (NA) actúa a nivel de los receptores α y β , aunque su agonismo alfa es más potente. Se utiliza para mantener la

presión arterial mediante el aumento de la resistencia vascular sistémica. Su corta semivida, 2,5 minutos, se utiliza en infusión continua.

Produce una marcada vasoconstricción periférica, aumentando la presión arterial y pudiendo ocasionar bradicardia refleja. El retorno venoso aumenta debido a la venoconstricción, manteniéndose el gasto cardíaco estable o disminuido, a la vez que aumenta el consumo de oxígeno. Se debe administrar con precaución en pacientes afectados de hipertensión pulmonar (HTP). Así mismo puede causar hipoperfusión visceral y periférica.

Dopamina

La dopamina actúa en los receptores adrenérgicos α y β , así como en los receptores dopaminérgicos. Además, interviene en la liberación de NA, por lo que sus efectos son mixtos, directos e indirectos. Su efecto más importante es la vasodilatación periférica, debido a su acción sobre los receptores dopaminérgicos de la membrana postsináptica, mejorando el flujo renal y mesentérico en estados de shock. Sin embargo, estudios recientes han objetivado la ausencia de mejoría de la función renal al administrar dopamina en estado de shock, por lo que su uso sistemático en estos casos no está indicado.

Fenilefrina

Es un agonista α_1 selectivo de acción directa. Su uso está indicado en aquellas situaciones en las que existe una disminución de la presión arterial con gasto cardíaco adecuado, por ejemplo tras la aplicación de una anestesia neuroaxial en el contexto anestésico.

Clonidina y dexmedetomidina

Son α_2 agonistas parciales. Se han utilizado tradicionalmente como antihipertensivos, y actualmente se están desarrollando nuevas aplicaciones como adyuvantes anestésicos, sedantes y analgésicos. Producen un efecto simpaticolítico, reduciendo la producción de NA periférica al estimular los receptores α_2 adrenergicos inhibidores presinápticos, inhibiendo la transmisión en el asta dorsal de la médula espinal, actuando sobre las neuronas simpáticas preganglionares espinales.

Su afinidad por los receptores α_2 respecto a los receptores α_1 presenta una relación de 200:1 en el caso de la clonidina y de 1600:1 para la dexmetomidina.

Dobutamina

Su efecto es directo y predominantemente β_1 , aunque también puede actuar sobre los receptores β_2 o α_1 . Afecta más al inotropismo que al cronotropismo, y, a diferencia de la dopamina, no produce aumento de la NA endógena ni actúa sobre los receptores dopaminérgicos.

Es, pues, particularmente útil en la insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) y en el infarto agudo de miocardio (IAM) complicado con bajo gasto cardíaco.

El tratamiento prolongado con dobutamina induce regulación a la baja de los receptores β adrenérgicos.

Isoproterenol

Este fármaco estimula los receptores β , y no posee actividad α . Actúa esencialmente en los receptores β_1 , aunque su estimulación de los β_2 es mayor que la de la dobutamina. Su efecto cardíaco es predominantemente cronotrópico, presentando taquicardia y arritmias como efectos adversos frecuentes.

Agonistas β_2

Estos fármacos son selectivos de los receptores β_2 , aunque con dosis mayores poseen actividad β_1 . Por otra parte, los receptores β_2 del nodo sinuauricular pueden producir taquicardia al ser estimulados. Además de dichos efectos, pueden predisponer a las arritmias debido a la hipopotasemia inducida por la estimulación de los receptores β_2 .

Estos fármacos se han utilizado como uno de los pilares del tratamiento del broncoespasmo. Los más utilizados han sido la terbutalina, el salbutamol, y el metaproterenol, entre otros.

También poseen efecto tocolítico, siendo de utilidad para retrasar el parto prematuro, como la ritodrina.

Alfa-bloqueantes

Clásicamente se han utilizado como hipotensores, aunque esta indicación ha ido disminuyendo con el tiempo. Producen disminución de las resistencias vasculares sistémicas, aumento del gasto cardíaco al disminuir la postcarga y aumento de la perfusión en las vísceras y órganos. Pueden desencadenar taquicardia refleja e hipotensión ortostática, así como congestión nasal.

El fármaco más representativo de este grupo es la fenoxibenzamina, que se une de forma irreversible a los receptores α_1 y α_2 . Se emplea para tratar el feocromocitoma de forma previa a su extirpación, con el objetivo de expandir el volumen intravascular y limitar los efectos deletéreos de las descargas catecolaminérgicas producidas por el tumor.

Beta bloqueantes

Los betabloqueantes se encuentran entre los fármacos más recetados. Entre las actuales indicaciones para su uso se encuentran la insuficiencia cardíaca, la HTA, cardiopatía isquémica, el tratamiento del postinfarto, las arritmias, miocardiopatía hipertrófica y en la profilaxis de la migraña. Presentan una acción importante como cardioprotectores, al disminuir la demanda de oxígeno del miocardio, prevenir el remodelamiento cardíaco, limitar el estrés y proteger el sistema cardiovascular. Múltiples estudios y el uso generalizado avalan su eficacia y seguridad, convirtiendo la estrategia del betabloqueo en un patrón frecuente y en crecimiento (Kristensen SD et al, 2014).

Los β -bloqueantes presentan una estructura similar al isoproterenol y se unen de forma competitiva a los receptores bloqueando el acceso de sus agonistas. Este bloqueo del receptor puede superarse aumentando la concentración de agonistas β . La potencia del fármaco β -bloqueante viene determinada por su capacidad para inhibir la taquicardia producida por el isoproterenol. Al propranolol se le asigna una potencia de 1, definiendo la de los demás fármacos de forma relativa a este valor. Los β -bloqueantes no selectivos actúan sobre los receptores β_1 y β_2 , y entre ellos se encuentran el propranolol, el timolol, el nadolol, el pindolol, el sotalol, el oxprenolol y el penbutol.

Los betabloqueantes cardiosselectivos presentan mayor afinidad por los receptores β_1 que por los β_2 , por lo que sus efectos predominantes son cardíacos. Con el bloqueo β_1 , disminuyen la conducción AV, la frecuencia y la

contractilidad cardíacas, así como la producción de renina y la lipólisis. En dosis elevadas, también puede existir bloqueo β_2 , con el consiguiente riesgo de broncoespasmo, vasoconstricción y disminución de glucogenólisis.

Entre estos fármacos cardiosselectivos se encuentran el atenolol, el betaxolol, el esmolol y el metoprolol. Son preferibles a la hora de instaurar betabloqueo en pacientes con enfermedad obstructiva respiratoria, hiperreactividad bronquial, fenómeno de Raynaud o diabetes mellitus; siendo necesario extremar las precauciones a la hora de la dosificación.

Algunos betabloqueantes poseen también un marcado efecto vasodilatador, como el caso del labetalol y el carvedilol, que son, además de antagonistas β , antagonistas α . En el caso del labetalol, presenta además un efecto agonista parcial de los receptores β_2 , denominándose esta particularidad actividad simpática intrínseca (ASI). Los bloqueadores beta con ASI inducen menos bradicardia que el resto y reducen la taquicardia debida al ejercicio.

El propranolol y el pindolol presentan actividad estabilizadora de membrana, reduciendo el potencial de acción y prolongando el período refractario. (Glick DB, 2015; Lawson NW y Johnson JO, 2001)

FARMACOLOGÍA COLINÉRGICA

Los fármacos que influyen sobre el sistema colinérgico actúan generalmente de una de estas cuatro maneras:

- Agonistas de los receptores colinérgicos
- Antagonistas de los receptores colinérgicos
- Inhibidores del metabolismo de la acetilcolina
- Inhibidores o estimulantes de los receptores de los ganglios autónomos

Agonistas colinérgicos

Acetilcolina

Debido a su rápida hidrólisis por la acetilcolinesterasa y butirilcolinesterasa no ha tenido casi ningún uso terapéutico, a excepción de la constricción de la pupila para cirugía oftalmológica.

Metacolina

Se sintetiza añadiendo un grupo metilo en posición β en la colina de la acetilcolina. Es un agonista muscarínico, totalmente resistente a la hidrólisis por parte de las colinesterasas. Su uso actual es el diagnóstico de hiperreactividad en las vías respiratorias, administrándose de forma inhalatoria.

Betanecol

Agonista muscarínico, derivado carbamato de la metacolina. Utilizado para tratamiento del íleo paralítico intestinal gracias a que estimula el peristaltismo.

Carbacol

Agonista nicotínico y muscarínico, utilizado de forma tópica para el tratamiento del glaucoma crónico de ángulo cerrado.

Antagonistas muscarínicos

Compiten con la acetilcolina por el acceso a los receptores muscarínicos bloqueando sus efectos. Producen aumento de la FC, son antisialogogos y pueden producir un efecto estimulante sobre el SNC, como la atropina, o sedante, como la escopolamina. Algunos, como el glucopirrolato, no atraviesan la barrera hematoencefálica (BHE).

El ipratropio, con los mismos efectos que la atropina cuando se administra por vía parenteral, se utiliza como tratamiento del asma, gracias a su estructura química de amonio cuaternario. Esta característica, dificulta su absorción sistémica cuando es aplicado en mucosas o por vía inhalatoria, siendo limitados sus efectos extrapulmonares.

Los efectos tóxicos de este grupo de fármacos se deben a la ausencia de especificidad de acción, produciendo bloqueo de los receptores muscarínicos periféricos y del SNC. Entre estos efectos tóxicos, se encuentran sequedad de boca, efectos cardíacos, oculares, urinarios o efectos sobre el SNC.

Inhibidores de la colinesterasa

Estos fármacos producen un agonismo colinérgico sostenido sistémico al impedir la hidrólisis de la acetilcolina. Existen tres clases de compuestos en esta categoría:

- 1- Carbamatos: fisostigmina y neostigmina. Se unen a la acetilcolinesterasa impidiendo su acción, y se utilizan para revertir el bloqueo neuromuscular y para el tratamiento de la miastenia gravis.
- 2- Organofosforados: insectidas y agentes nerviosos de guerra química como el sarín.
- 3- Alcoholes de amonio cuaternario: edrofonio

Agonistas ganglionares

Nicotina

Sus efectos han sido ampliamente estudiados por su toxicidad y proclividad a producir dependencia. Su administración produce aumento de la FC, vasoconstricción e incremento de la presión arterial. Sus efectos se deben en general a la estimulación de los ganglios simpáticos y de la médula suprarrenal.

Antagonistas ganglionares

Fueron los primeros agentes utilizados con éxito en el tratamiento de la hipertensión arterial, aunque debido a sus efectos derivados de bloquear tanto los ganglios simpáticos como los parasimpáticos, hoy en día están en desuso. El hexametonio es el fármaco prototipo, con escasa actividad muscarínica y neuromuscular. (Glick DB, 2015; Lawson NW y Johnson JO, 2001)

1.1.2 ANESTESIA Y SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO

La anestesia general habitualmente se realiza con la administración de uno o varios fármacos intravenosos combinados (opioide asociado a un fármaco inductor) y un agente inhalatorio para el mantenimiento de la anestesia. En la práctica clínica también es habitual la realización de la anestesia con un solo agente intravenoso, técnica conocida como TIVA (total intravenous anaesthesia), o bien realizar tanto la inducción como el mantenimiento con anestesia inhalatoria (VIMA).

Estos agentes anestésicos pueden influir en el sistema cardiovascular, respiratorio, neurológico, digestivo e inmunológico ocasionando modificaciones

en la respuesta observada en condiciones clínicas y experimentales. (Lankhorst S et al., 2015)

Algunos de los efectos observados en el sistema cardiovascular tras la administración de agentes anestésicos pueden ser consecuencia de la interacción de los fármacos con el SNA. Varios estudios han mostrado las consecuencias de la afectación autonómica, especialmente en pacientes con ciertas patologías como hipertensión arterial, diabetes o cardiopatía. (Latson TW et al., 1994; Ebert TJ, 1999)

El sevoflurano disminuye la actividad del sistema simpático, mientras el N₂O la aumenta (Ebert TJ, Muzi M y Lopatka CW, 1995; Ebert TJ, 1990). El análisis de la variabilidad de la frecuencia cardíaca, es una de las herramientas aceptadas para cuantificar el control autonómico de la actividad cardíaca (Task Force, 1996).

La variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC), medida como las oscilaciones en la FC que ocurren entre un latido cardíaco y otro, es un marcador cada vez más utilizado para estudiar de forma no invasiva la modulación autonómica de la función cardiovascular. La VFC se usa como indicador del estado de salud y una VFC disminuida predice eventos cardíacos adversos y mortalidad tanto en personas sanas como en aquellas con enfermedad cardiovascular (Ortiz Guzmán et al., 2012)

Tanto la anestesia inhalatoria como la intravenosa disminuyen el componente de baja frecuencia low-frequency-component que depende de los sistemas simpático y parasimpático. Sin embargo, el componente de alta frecuencia “high frequency-component” es dependiente del sistema nervioso parasimpático y disminuye en mayor medida con los agentes inhalatorios (Ogawa Y et al., 2006).

La actividad barorrefleja se refiere a la variación de la frecuencia sinusal en respuesta a una elevación rápida de la presión arterial. Esto desencadena un aumento del tono vagal y un enlentecimiento de la FC. Por tanto, la conservación de la actividad barorrefleja supone un mecanismo de control rápido que determina el ajuste del gasto cardíaco y las resistencias vasculares

sistémicas en rangos homeostáticos. Durante una intervención quirúrgica, los estímulos dolorosos y la pérdida de sangre producen cambios agudos en la presión arterial que son compensados mediante la actividad barorrefleja. En las situaciones en las que este mecanismo se ve afectado se aprecia una mayor fluctuación hemodinámica. Por tanto, si los fármacos anestésicos afectan dicho mecanismo observaremos una mayor fluctuación hemodinámica. Esto es especialmente relevante en pacientes con patologías que alteran la normofunción del SNA, como los diabéticos, que presentan mayor labilidad en la evolución de las presiones arteriales durante la cirugía (Latson TW et al., 1994). Los agentes inhalatorios como el sevoflurno, isoflurano y desflurano, disminuyen la intensidad de la actividad barorrefleja de forma proporcional a su concentración (Tanaka M y Nishikawa T, 1999) (Ebert TJ et al., 1995).

Los resultados con el propofol son controvertidos. Algunos autores como Cullen PM et al., 1987, no encontraron alteración en la repuesta barorrefleja, otros como Deustschman CS et al., (1994), encontraron que el fármaco disminuía ambos componentes, simpático y parasimpático, aunque este en mayor medida.

Ebert TJ y Muzi M (1994) y Kamijo Y (1992), encontraron que el propofol en individuos sanos atenuó la respuesta del sistema nervioso simpático mientras que se conservaron las respuestas parasimpáticas. Sato M et al., (2015) en voluntarios sanos vieron alteración de la respuesta barorrefleja y que esta estuvo alterada hasta una hora después de la administración.

Un problema derivado de todo esto será diferenciar las alteraciones producidas por el protocolo anestésico de aquellas debidas al objeto de estudio de la investigación.

1.1.3. ENFERMEDADES SISTÉMICAS ASOCIADAS A ALTERACIÓN DE LA FUNCIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO

La función del sistema nervioso autónomo vegetativo es esencial para la homeostasis del organismo, y en particular del sistema cardiovascular,

mediante la interacción de sus dos subsistemas, simpático y parasimpático. De esta forma, si dicha interacción falla produciéndose una hiperactividad o predominio del sistema simpático, se pueden producir arritmias potencialmente graves que pueden llegar a amenazar la vida del paciente. Por el contrario, si lo que predomina es una hiperactividad parasimpática, esta ejercerá un efecto cardiaco protector y antifibrilatorio, aunque limita los mecanismos de compensación ante situaciones patológicas de carácter agudo, tales como la insuficiencia cardiaca congestiva aguda (Pop-Busui R, 2010).

Múltiples enfermedades, tales como el infarto agudo de miocardio, la insuficiencia cardiaca tanto aguda, ya mencionada, como crónica, y las arritmias presentan un SNA alterado.

Así mismo, el SNA también se encuentra afectado en otras patologías no cardíacas, tales como la disfunción autonómica en la diabetes, cirrosis hepática, accidente cerebrovascular agudo, trastornos de pánico y estrés postraumático, obesidad, síndrome de hipo-apnea obstructiva del sueño (SAHOS), lesión medular aguda, entre otras.

Existen supuestos clínicos en los que el corazón se encuentra completamente denervado, como el trasplante cardíaco, mientras que en otros dicha denervación será parcial. Los tratamientos crónicos con betabloqueantes o con fármacos que causan depleción de las reservas catecolaminérgicas, como antipsicóticos, antidepresivos, inhibidores de la recaptación de la serotonina son algunos ejemplos. (Dümcke CW y Møller S, 2008) (Rangari M et al., 2002).

En la práctica clínica habitual prestamos asistencia a pacientes que pueden presentar comorbilidad en forma de alguna de estas patologías o tratamientos, además de otras circunstancias como intoxicaciones por alcohol o drogas de abuso que pueden estar presentes en las intervenciones de urgencia. Estas situaciones van a influir en la funcionalidad del SNA. Por otra parte, el mismo acto quirúrgico va a producir una alteración del SNA siendo especialmente relevante en pacientes ancianos con una reserva cardiovascular disminuida. (Workman AJ, 2010).

1.1.4 MODELOS ANIMALES Y BLOQUEO AUTONÓMICO

Los pacientes con patologías causantes de disfunción autonómica pueden precisar de una valoración del SNA, y en ocasiones será necesario la realización de un determinado estudio en condiciones de bloqueo autonómico.

Asimismo, los efectos cardiovasculares de un fármaco pueden deberse a una mediación del SNA, o actuar directamente sobre la función cardíaca. En alguna circunstancia será conveniente evaluar los agentes farmacológicos en condiciones de bloqueo autonómico. Esto facilitaría la diferenciación de los efectos directos de los fármacos y los procedimientos realizados frente a los efectos indirectos como consecuencia de la modificación del SNA. Así mismo, en algunas patologías se podría discernir qué mecanismos patológicos son derivados intrínsecamente de la patología y cuales de la afectación del SNA.

Muchas investigaciones han sido iniciadas en una fase preliminar en modelos animales, entre otras razones debido a la necesidad en algunos protocolos del empleo de métodos invasivos potencialmente perniciosos, lo cual resultaría inaceptable para su uso en pacientes.

Así pues, es esencial la elaboración de modelos de investigación eficaces y fácilmente reproducibles. El modelo empleado debería imitar, de forma ideal, las condiciones clínicas habituales. Además, debería ser realizado en un tamaño muestral de animales lo suficientemente extenso con el objetivo de obtener resultados valorables y reproducibles.

Existen dos formas clásicas de realizar un bloqueo del sistema nervioso autónomo: quirúrgica y farmacológica. Existen varias técnicas quirúrgicas que se pueden utilizar para realizar un bloqueo del SNA. Las más utilizadas han sido la vaguectomía secuencial cervical y torácica asociada a gangliectomía simpática, autotrasplante cardíaco y denervación pericárdica (Donald DE, 1974; La denervación quirúrgica, sin embargo, puede no producir una denervación eficaz del corazón, puesto que al ser estimulado el sistema simpático, la

medula adrenal puede liberar catecolaminas que produzcan un efecto cronotrópico positivo en el marcapasos cardíaco, entre otros efectos. Además, en el contexto quirúrgico, algunos autores como Tanaka M y Nishikawa T, (1999) consideran que la sensibilidad cardíaca a las catecolaminas y a agentes colinérgicos están aumentados tras la denervación quirúrgica. Se ha especulado como posible mecanismo la anulación de la recaptación de neurotransmisores en las terminaciones nerviosas conduciendo a un aumento en su concentración y por tanto, en sus efectos (Latson TW et al., 1994). Finalmente, también se ha descrito reinervación tras la cirugía.

Los modelos experimentales que emplean técnicas quirúrgicas, por otro lado, llevan aparejada una gran manipulación y agresividad, además de ser técnicamente más difíciles y por este mismo motivo, menos reproducibles.

Respecto a la técnica farmacológica habitualmente se administra un fármaco simpaticolítico y un agente parasimpaticolítico asociados. Esto permite conservar la integridad física del animal, limitando la respuesta de estrés e inflamatoria de su organismo, permitiendo reproducir un estado que se aproxima de forma estrecha al aislamiento del corazón.

Sin embargo, al revisar los diferentes estudios de BA en modelos animales, existe una gran variabilidad en los agentes utilizados, sus dosis y los intervalos de administración. De igual manera, existen grandes diferencias entre diferentes especies.

Uno de los estudios clásicos de valoración de bloqueo del SNA fue el de Jose y Taylor en el año 1969, que determinaron la dosis de atropina y propranolol necesarios para inducir un bloqueo del SNA efectivo en pacientes sanos. Los autores administraron dosis sucesivas de 0,01 mg/kg de atropina y de 0,05 mg/kg de propranolol a 36 pacientes sanos en intervalos de 3 minutos hasta que el paciente no presentaba modificación significativa en la frecuencia cardíaca. La frecuencia cardíaca obtenida final la denominaron "*frecuencia cardíaca intrínseca*". Posteriormente aplicaron las dosis de denervación obtenidas con su estudio preliminar a pacientes con enfermedad miocárdica. Con ello observaron que tras el bloqueo autonómico, se hicieron aparentes

anomalías hemodinámicas en la mayoría de los pacientes con enfermedad cardíaca que habían presentado valores normales en el estudio control. Los citados autores realizaron así mismo un estudio en perros en el que analizando la duración del BA tras la administración de 0,2 mg/Kg de propranolol y dosis repetidas cada 15 minutos de 0,2 mg/kg de atropina.

De forma similar otro estudio realizado por Talajic M y Nattel S (1986) demostraron que en perros la dosis eficaz de propranolol para producir bloqueo simpático fue de 0,3 mg/kg seguido de una infusión de 0,45 mg/kg/h, y que una única dosis de 1 mg de atropina producía suficiente bloqueo parasimpático durante varias horas.

Ikeno S et al., (1999) evaluaron los efectos del propofol en condiciones de bloqueo autonómico en perros, utilizando en este caso una dosis de 0,5 mg/kg de atropina y de 1-1,5 mg/kg de propranolol.

Otro aspecto relevante en un modelo de denervación autonómica es la duración del bloqueo autonómico efectivo. Durante un determinado experimento, el bloqueo realizado, debería garantizar condiciones estables a lo largo de la duración del experimento. Este aspecto, sin embargo, no ha sido estudiado de forma adecuada previamente.

La gran confusión derivada de la metodología existente, así como el empleo de diferentes especies animales, sin la seguridad de que el bloqueo autonómico sea idéntico en las mismas, hace necesario desarrollar un modelo animal de bloqueo autonómico estandarizado y reproducible, en la especie animal objeto de estudio de denervación autonómica.

1.2. REMIFENTANILO

El remifentanilo es un opioide, agonista de los receptores μ , sintetizado por Feldman PL et al. en 1991. En 1996 fue aprobada su utilización en la clínica como suplemento de la anestesia general por la US Food and Drugs Administration, tras haberse realizados múltiples estudios sobre su perfil

farmacocinético (Egan TD et al., 1993), farmacodinamia (Egan TD et al., 1996; Minto CF et al., 1997) y metabolismo (Feldman PL et al., 1991), así como de utilización en poblaciones especiales (Hoke JF et al., 1997(a); Dershwitz M et al., 1996). Su potencia analgésica es similar a la del fentanilo, pero su metabolismo se realiza mediante esterasas no específicas que producen la hidrólisis de la estructura éster. Su rápida eliminación sistémica, con una vida media de 8-10 minutos, le concede una gran ventaja farmacocinética al ser predecible la terminación de sus efectos, siendo sin embargo su farmacodinamia indistinguible de la de otros opioides. Por las características del fármaco, el remifentanilo es el primer opioide de verdadera acción ultracorta. (Del Blanco B, 2012; Fukuda K, 2015)

1.2.1. FARMACOLOGÍA BÁSICA

El remifentanilo es un derivado piperidínico, un éster metílico del ácido 3-(4-metoxicarbonil-4-[(L-oxopropil)-fenilamino]-L-piperidina) propanoico. Se suministra como clorhidrato de remifentanilo, un polvo liofilizado blanco que debe ser reconstituido y diluido antes de su utilización. Su formulación actual contiene glicina como vehículo amortiguador de la solución, lo que contraindica su utilización en anestesia del neuroeje. Una vez reconstituido, tiene un pH \approx 3 y un pK \approx 7,07. Es liposoluble, con un coeficiente de partición octanol/agua a un pH de 7,4 de 17,9. El porcentaje de unión a proteínas del remifentanilo es del 92% (Fukuda K, 2015).

Al igual que el resto de las anilidopiperidinas, actúa sobre los receptores μ , siendo mediado su efecto analgésico a través del acoplamiento al nucleótido guanina de la proteína de unión (proteína G). Esta unión produce a nivel presináptico una inhibición de la liberación del neurotransmisor excitatorio, y postsinápticamente, una inhibición de la monofosfatasa de adenosina cíclica, supresión de los canales de calcio voltaje sensibles e hiperpolarización de la membrana postsináptica a través del incremento de la conductancia del potasio.

Los estudios de afinidad por los receptores han demostrado que la selectividad y afinidad del remifentanilo por los receptores opioides μ es mucho mayor que para los receptores opioides δ o κ (James MK et al., 1991), pudiéndose ser

demostradas mediante el antagonismo competitivo de la naloxona (Amin HM et al., 1995).

El principal metabolito del remifentanilo es el ácido remifentanílico que posee menor afinidad por los receptores, siendo su potencia entre 800 y 2000 veces menor que la del remifentanilo (Westmoreland CL et al., 1993).

1.2.2. FARMACOCINÉTICA DEL REMIFENTANILO

La introducción de un grupo metil-éster en la cadena N-acil del anillo de piperidina, le confiere una mayor susceptibilidad al metabolismo por hidrólisis mediante las esterasas inespecíficas de la sangre y los tejidos, y por lo tanto, una terminación rápida de su efecto (Figura 2).

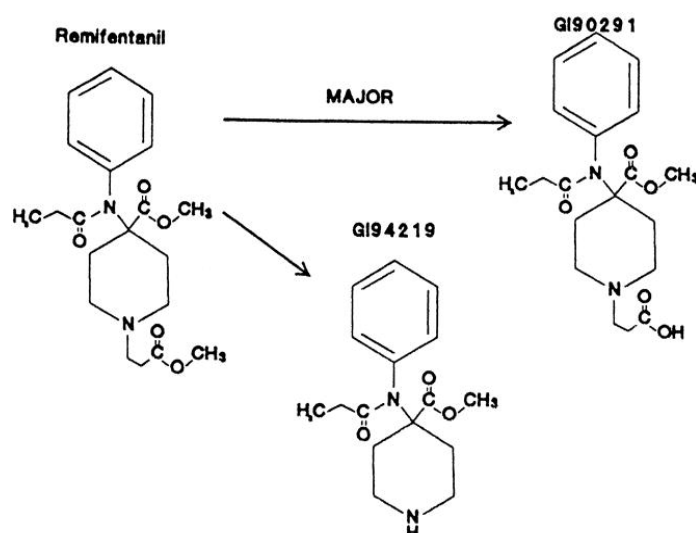


Figura 2. Estructura y metabolismo del remifentanilo

Las pruebas in vitro han demostrado que su degradación no se ve alterada por la inhibición de la colinesterasa plasmática ni por los estados de alteración de la función de esta última enzima (Stiller RL et al., 1995). Del mismo modo, el remifentanilo no altera la degradación ni la duración de acción de otros compuestos metabolizados por esterasas, como la succinilcolina y el esmolol.

El comienzo de acción rápido del remifentanilo queda demostrado por la breve semivida que tarda en conseguir el equilibrio entre el plasma y el lugar donde va a ejercer su efecto, siendo $t_{1/2ke0}$ de 1-1,5 minutos. Este corto $t_{1/2ke0}$ junto con la rápida redistribución se traduce en un tiempo de 1,5 minutos para conseguir el máximo efecto farmacológico después de un bolo, convirtiéndole en un opioide cuya dosis es fácil de ajustar (Fukuda K, 2015).

Todos los estudios coinciden en señalar que la concentración de remifentanilo descende con mucha rapidez después de finalizar su administración, poniéndose de manifiesto por la semivida sensible al contexto que es extremadamente corta (tiempo que tarda en disminuir la concentración efectiva al 50% después de interrumpir la perfusión del fármaco), siendo de 3-5 minutos, con independencia de la duración de la perfusión intravenosa. La semivida sensible al contexto tiene en cuenta la contribución tanto de la eliminación como de la redistribución en la velocidad de disminución de la concentración del fármaco. Cuando el remifentanilo se administra dentro de un intervalo clínico apropiado, por su corta semivida sensible al contexto y su rápida $ke0$, tiene como resultado un final muy rápido del efecto opiáceo cuando ha finalizado la administración del fármaco. La línea de decremento sensible al contexto para el remifentanilo es independiente del tiempo (Fukuda K, 2015; Del Blanco B, 2012).

El metabolismo esterásico del remifentanilo hace que su farmacocinética sea independiente de la insuficiencia de los órganos responsables de su eliminación farmacológica, no alterándose en caso de existir insuficiencia hepática o insuficiencia renal (Hoke JF et al., 1997; Dershwitz M et al., 1996). En los pacientes con hepatopatía es posible que se precisen dosis menores para producir un efecto determinado por una mayor sensibilidad a los opioides, siendo la recuperación igual de rápida tras el cese de la administración del mismo. Esta sensibilidad aumentada no se observa en los pacientes con afectación renal. El pulmón no parece participar en el metabolismo del remifentanilo, al no estar sometido a los efectos de primer paso que tiene lugar tras la administración intravenosa de otros fármacos (Fukuda K, 2015; Del Blanco B, 2012).

El metabolito principal del remifentanilo es dependiente de la excreción renal, pero posee una baja potencia, por lo que aunque se acumule en los pacientes con insuficiencia renal no alcanza concentraciones clínicas significativas ni tan siquiera tras la administración intravenosa prolongada (Hoke JF et al, 1997). Trabajos realizados en pacientes con alteración moderada-severa de la función renal ingresados en unidades de Cuidados Intensivos han confirmado estos hallazgos (Pitsiu M et al., 2004).

La farmacocinética del remifentanilo en los pacientes pediátricos entre dos y doce años no difiere de la de los adultos (Davis PJ et al., 1997). En los ancianos el fármaco tiene un comienzo de acción más lento, existiendo además en ellos una mayor sensibilidad, al igual que a todos los agonistas de los receptores μ (Minto CF et al., 1997). El menor volumen de distribución y el aclaramiento más bajo que poseen los pacientes ancianos hace que la dosificación del remifentanilo se deba disminuir conforme aumenta la edad. De esta manera es recomendable la disminución a la mitad de la dosis de carga inicial ajustando posteriormente según las necesidades quirúrgicas.

El remifentanilo atraviesa fácilmente la placenta, al igual que otros opioides de la clase piperidina, pero a diferencia de ellos, el feto lo metaboliza rápidamente (Kan RE et al., 1998).

La formulación actual del remifentanilo contiene glicina por lo que no puede ser utilizado por vía epidural.

La farmacocinética del remifentanilo no se ve influida por el peso del paciente, de modo que estudios comparativos entre obesos mórbidos y pacientes sin sobrepeso han demostrado que los parámetros farmacocinéticos están más relacionados con la masa magra que con el peso total. El cálculo de la dosis se hará por tanto en función del peso corporal ideal o de la masa magra. Un obeso mórbido no precisa aumento de dosis proporcional a su peso, aunque suela requerir más dosis, nunca será la que correspondería a su peso total (Egan TD et al., 1998).

1.2.3 FARMACODINAMIA DEL REMIFENTANILO

Potencia relativa

Para la descripción de la farmacodinamia del remifentanilo, al igual que de cualquiera de los agonistas de los receptores μ , es necesaria la determinación de sus potencias relativas. Los primeros trabajos ya demostraron, utilizando la reducción de la concentración alveolar mínima y métodos electroencefalográficos, que la potencia del remifentanilo es muy cercana a la del fentanilo (Egan TD et al., 1996; Minto CF et al., 1997; Lang E et al., 1996), siendo entre 40 y 70 veces más potente que el alfentanilo (Glass PS et al., 1999 a) y la décima parte que el sufentanilo (Brunner MD et al., 1994) .Tabla 4 .

Tabla 4. Potencias relativas de los agonistas opioides μ según su habilidad de disminuir a la mitad la MAC del isoflurano

Opioide	Potencia relativa al fentanilo
Fentanilo	1
Sufentanilo	12
Alfentanilo	1/16
Remifentanilo	1,2

Respecto al metabolito del remifentanilo GI90291, estudios adicionales han demostrado su menor potencia respecto al propio remifentanilo en un orden de magnitud tal que se considera inactivo incluso en los casos en los que podría existir acumulación del metabolito como en la insuficiencia renal (Fukuda K, 2015).

Efectos respiratorios

La administración de remifentanilo produce, al igual que todos los opioides μ , una depresión respiratoria dosis dependiente. El grado de depresión respiratoria va a depender además de otros factores diferentes de la dosis como son: la edad, el estado de salud del paciente, la presencia de dolor y

otros estímulos. La principal ventaja del remifentanilo es que a pesar de utilizarse durante la anestesia con ventilación controlada a dosis altas, que producen un efecto analgésico intenso con efecto depresor respiratorio también importante, una vez se ha terminado la perfusión, permite sin embargo, una ventilación espontánea adecuada a los diez minutos de la finalización de la perfusión. De igual manera, si se observa depresión respiratoria en un paciente con respiración espontánea durante la administración de remifentanilo, la reducción o la finalización de la perfusión restaurará con rapidez el estímulo ventilatorio adecuado (Glass PS et al., 1999). En caso necesario, puede utilizarse naloxona para anular el efecto de la depresión respiratoria del remifentanilo (Amin HM et al., 1995).

La depresión respiratoria que sigue a la administración de una dosis bolo de 0,5 µg/kg ha sido estudiada por algunos autores que han valorado su efecto sobre el electroencefalograma (EEG) y la ventilación, observando que existen diferencias regionales en la respuesta a los opioides en el sistema nervioso central. La traducción clínica es la posibilidad de que un paciente esté en apnea mientras aún está despierto tras la administración del bolo de remifentanilo (Fukuda K, 2015; Del Blanco B, 2012).

La monitorización respiratoria, por lo tanto, es imprescindible cuando se utiliza este fármaco para sedación en pacientes en ventilación espontánea.

Desde el punto de vista ventilatorio, a la depresión respiratoria hay que añadir el grado de rigidez muscular y torácica que son efectos igualmente dependientes de la dosis y que pueden dificultar la ventilación (Fukuda K, 2015; Del Blanco B, 2012).

Al igual que otros opioides μ , el remifentanilo produce un aumento de la incidencia de rigidez muscular dosis dependiente. Por tanto, la dosis inicial de remifentanilo no debe superar 1 µg.kg⁻¹ administrado durante un minuto. Tampoco se ha observado rigidez si se utiliza antes de la inducción anestésica, cuando se administra un hipnótico en los 30-60 segundos posteriores a la administración de remifentanilo (Glass PS et al., 1999, Fukuda, 2015).

Efectos sobre el Sistema Nervioso Central

El remifentanilo produce supresión en el EEG de forma dosis dependiente (Glass PS et al., 1999), no habiéndose demostrado convulsiones durante su administración (Moore K et al., 1995). Al igual que otros opioides, el remifentanilo carece de efectos en el metabolismo cerebral, aunque está reflejado un descenso en el flujo sanguíneo cerebral (Hoffman WE et al., 1993). Sin embargo, cuando se utiliza remifentanilo a dosis elevadas que conllevan alteración hemodinámica, sí se puede producir una reducción en la presión de perfusión cerebral. Otros autores sin embargo, consideran que el remifentanilo puede producir descensos tanto del metabolismo cerebral como de la presión intracraneal, con mínimos cambios en la presión de perfusión cerebral y en el flujo sanguíneo cerebral (Ostapkovich ND et al., 1998; Guy J et al., 1997).

El remifentanilo permite la evaluación neurológica temprana una vez que se suspende su administración, siendo un fármaco con un gran potencial en neurocirugía y en los pacientes con patología cerebral ingresados en unidades de reanimación. Así mismo, se pueden realizar maniobras como la aspiración traqueal sin provocar aumentos en la presión intracraneal manteniéndose la estabilidad hemodinámica (Fukuda K, 2015; Del Blanco B, 2012).

Un efecto a tener en cuenta con el uso de los opioides de acción corta es el desarrollo de tolerancia, o necesidad de incrementar la dosis para compensar la respuesta reducida. Esta se considera secundaria a la desensibilización de los receptores. En el caso de los receptores μ , se cree que la tolerancia está relacionada con la unión de una proteína, β -arrestin-2, a dichos receptores (Bohn LM et al., 2000). En el postoperatorio de pacientes sometidos a cirugía abdominal mayor ha quedado demostrada la aparición de tolerancia aguda a los opioides de acción corta como alfentanilo y remifentanilo (Guignard B et al., 2000). Los autores sugieren que la activación de los receptores μ produce un incremento en la neurotransmisión glutamatérgica, lo cual reduce el efecto μ analgésico.

Efectos cardiovasculares y cardioprotección

De forma similar a otras anilidopiperidinas, el remifentanilo provoca alteraciones sobre la frecuencia cardiaca, en forma de ligera bradicardia, y descenso de un 15-20% de la presión arterial (Glass PS et al., 1999; Dershwitz M et al., 1995).

La máxima depresión cardiovascular tiene lugar tras la administración de la primera dosis de remifentanilo, y puede ser prevenida mediante la premedicación con glicopirrolato. En el paciente anciano se requieren una monitorización cuidadosa y unas dosis adaptadas, puesto que la inducción con las dosis teóricamente recomendadas puede asociarse a una profunda hipotensión (Fukuda K, 2015; Del Blanco B, 2012).

A los primeros estudios en los que se demostraba una ligera bradicardia tras la administración de remifentanilo (Dershwitz M et al., 1995) se han ido añadiendo publicaciones en las que se comunican bradicardias severas tras su infusión (Reid JE y Mirakhur RK, 2000; DeSouza G et al., 1997; Kurdi O et al., 2001; Elliott P et al., 2000).

Existe la aceptación generalizada de que la bradicardia inducida por los opioides está mediada por estimulación vagal, aboliéndose el efecto por la vagotomía bilateral (Reitan JA et al., 1978), siendo un factor importante la velocidad de infusión, de forma que la experiencia clínica sugiere que la bradicardia puede minimizarse mediante la infusión lenta (Liu WS et al., 1976).

Factores asociados como la bradicardia previa del paciente o el tratamiento concomitante con fármacos betabloqueantes o antagonistas de los canales del calcio, o la utilización de relajantes neuromusculares como el vecuronio, que no posee propiedades vagolíticas, hace que aumente la incidencia de bradiarritmias con la utilización del remifentanilo (Reid JE y Mirakhur RK, 2000; DeSouza G et al., 1997).

Las propiedades del remifentanilo en el control de la frecuencia cardiaca han propiciado que se utilice en situaciones como la fibrilación auricular (FA) rápida para controlar la respuesta ventricular (Williams H y Spoelstra C, 2002). El nodo AV está innervado por el sistema nervioso simpático y parasimpático. La innervación parasimpática se origina predominantemente desde el nervio vago izquierdo (Del Blanco B, 2012).

Los opioides por estimulación del nervio vago y por su acción simpaticolítica disminuyen la frecuencia cardíaca (Fukuda K, 2015; Del Blanco B, 2012). El remifentanilo favorece el enlentecimiento de la conducción AV, y por tanto disminuiría la respuesta ventricular en el contexto de una FA rápida (Williams H y Spoelstra C, 2002).

Al igual que otras anilidopiperidinas como fentanilo y el remifentanilo no produce liberación de histamina (Fukuda K, 2015; Del Blanco B, 2012; Sebel PS et al., 1995) y en dosis de inducción de 1µg/kg/min elimina la respuesta al estrés, medida por la ausencia de modificaciones en la concentración de adrenalina y noradrenalina, después de una esternotomía en cirugía cardíaca (Glass PS et al, 1999,b).

En los pacientes con antecedentes de isquemia miocárdica, o bien de riesgo de isquemia, uno de los objetivos de la anestesia es evitar nuevos fenómenos isquémicos. Su prevención requiere la reducción de la demanda de oxígeno, siendo la hipertensión y la taquicardia los dos determinantes más importantes de la misma. La técnica anestésica con utilización de altas dosis de opioides conseguía esta meta (Mangano DT et al., 1992), pero conllevaba una depresión respiratoria más prolongada con mayor necesidad de soporte ventilatorio en el postoperatorio. Aunque este aspecto no era considerado como relevante, la tendencia actual hacia una mayor eficiencia en el uso de los recursos, ha valorado como uno de los objetivos el de la recuperación precoz de la ventilación espontánea en los pacientes sometidos a cirugía cardíaca u otra cirugía mayor. En este sentido el remifentanilo es un fármaco ideal para alcanzar estos objetivos de recuperación rápida.

En dos estudios multicéntricos realizados separadamente en Europa y Norteamérica en pacientes sometidos a cirugía de revascularización coronaria, se ha demostrado la eficacia del remifentanilo en este tipo de cirugía. Su empleo proporciona una gran estabilidad hemodinámica intraoperatoria, además de la posibilidad de mantener la perfusión de remifentanilo una vez finalizada la cirugía durante las dos o tres horas postreperusión, que son el periodo considerado de máximo riesgo de nuevos episodios isquémicos, sin incrementar los tiempos de extubación (Camu F y Royston D, 1999).

La cirugía cardíaca a menudo se acompaña de fenómenos de isquemia y reperusión del miocardio, y esto se puede asociar con lesiones perioperatorias,

arritmias y disfunción miocárdica. En los últimos años se ha realizado una intensa investigación buscando como prevenir y mejorar la lesión de isquemia y reperfusión. Hay que destacar el innovador estudio de Murry CE et al, en el que “condicionaban” el corazón para tolerara los efectos de la isquemia-reperfusión aguda, induciendo periodos breves no letales de isquemia y reperfusión antes de inducir una isquemia mantenida letal. La reducción dramática que observaron en la lesión miocárdica actualmente se refiere como “precondicionamiento isquémico” (Murry CE et al., 1986).

Los opioides se han relacionado con un efecto cardioprotector similar al desarrollado por el precondicionamiento isquémico. Así los receptores opiáceos han sido uno de los primeros sistemas identificados en el proceso de condicionamiento isquémico, sugiriéndose que existe un enlace endógeno protector entre los opioides y el precondicionamiento. Recientemente se ha demostrado este efecto con la utilización del remifentanilo en un estudio experimental realizado en ratas (Zhang Y et al., 2004). En este estudio se sometió a todos los animales a 30 minutos de oclusión de la arteria coronaria izquierda con dos horas posteriores de reperfusión. Antes de los 30 minutos de oclusión se realizaba la técnica de precondicionamiento mediante isquemia (precondicionamiento isquémico: 5 minutos de oclusión, 5 minutos de reperfusión repetido en tres ocasiones), o bien pretratamiento con remifentanilo realizando la misma secuencia de precondicionamiento, utilizando 0,2, 0,6, 2, 6 o 20 µg/kg/min de remifentanilo intravenoso. El experimento se repitió posteriormente pero administrando por vía sistémica, antes de inducir el precondicionamiento, antagonistas selectivos de los diferentes receptores opioides δ , κ y μ , observándose como el efecto protector se atenuó significativamente.

Estudios posteriores han investigado en preparaciones de corazón aislado de rata si el efecto protector del fármaco era por acción directa sobre el corazón, donde no existen receptores μ . Se piensa que el efecto cardioprotector del remifentanilo está probablemente mediado por los receptores opioides δ y κ cardiacos, al abolirse dicho efecto cardioprotector al administrar antagonistas de los receptores δ y κ , y no bloquearse con antagonistas de los receptores μ (Zhang Y et al., 2005). Y todo ello, pese a que el remifentanilo es un opioide con una alta selectividad por los receptores μ , y baja afinidad por los δ y κ . Así

mismo parece que el remifentanilo ofrece una segunda ventana de protección 24 h tras su administración (Irwin MG y Wong GT, 2015).

1.2.4. PRECAUCIONES EN EL EMPLEO DEL REMIFENTANILO

Las precauciones que se deben considerar serán las adecuadas para evitar los principales efectos secundarios como la rigidez muscular en el paciente sin relajación neuromuscular asociada y aún no intubado, los recuerdos intraoperatorios, la bradicardia e hipotensión arterial perioperatorias y el dolor con agitación y escalofríos al despertar (Fukuda K, 2015; Del Blanco B, 2012). Debe adaptarse la velocidad de perfusión del fármaco ante la intensidad de los distintos estímulos nociceptivos, evitando una gran velocidad en la infusión del bolo. Se debe garantizar una dosis mínima del agente anestésico asociado para asegurar la hipnosis perioperatoria y es obligatorio la administración de analgésicos de rescate antes de la finalización de la perfusión del remifentanilo. Se aconseja que la infusión de remifentanilo se realice en un sistema lo más cercano a la entrada del acceso venoso.

Para asegurar la pérdida de consciencia y prevenir el despertar intraoperatorio el remifentanilo ha de asociarse a una dosis mínima de agente hipnótico que es variable de un paciente a otro y que idealmente puede ser determinado mediante el índice biespectral (Guignard B et al., 2000b; (Fukuda K, 2015; Del Blanco B, 2012).

Cuando se está utilizando remifentanilo en un paciente intubado, es recomendable que la perfusión sea suspendida antes de la extubación por el riesgo de apnea y de rigidez torácica que pueden tener lugar pese a una vigilancia estrecha del paciente, habiendo administrado previamente la analgesia postoperatoria que estaba planificada.

Existen estudios en los que el remifentanilo se administra mediante sistema de analgesia controlada según concentración diana, permitiendo la analgesia postoperatoria del remifentanilo en pacientes conscientes en respiración espontánea (Schraag S et al., 1998).

1.3. ELECTROFISIOLOGÍA CARDIACA

Los estudios electrofisiológicos representan unas de las herramientas más útiles para el diagnóstico y evaluación entre otros, de los efectos de los fármacos en las propiedades eléctricas del corazón.

1.3.1. ESTUDIOS ELECTROFISIOLÓGICOS, CONCEPTOS ESENCIALES

Gracias a la utilización de microelectrodos de vidrio con una punta inferior a una micra de diámetro, se han podido estudiar los cambios de voltaje que ocurren en el interior de una célula cardíaca durante su activación así como el sustrato eléctrico del automatismo celular (Cosín J et al., 1988; Del Blanco B, 2012).

El potencial medido entre dos microelectrodos no introducidos en la célula, colocados en el líquido nutritivo de alrededor se considera potencial “0”. En reposo, al introducir el electrodo en el interior de la célula cardíaca, se produce una diferencia de potencial entre -70 y -90 mV, siendo el interior de la célula negativo respecto al exterior. Se obtiene así el denominado “**potencial de reposo transmembrana**” o potencial diastólico de reposo, cuyo valor es diferente según la célula cardíaca a que se refiera: -60 mV en el nodo sinusal y en el nodo AV, y -90 en las células de Purkinje. La diferencia en la concentración de iones sodio (Na^+), potasio (K^+), calcio (Ca^{++}) y cloro (Cl^-) a ambos lados de la membrana de la célula cardíaca es la responsable de dicho potencial de reposo (Rubart & Zipes, 2013).

La conductancia de la membrana para los diversos iones dependerá del número de canales específicos que la atraviesan y de las propiedades individuales de dichos canales, los cuales no se comportan como meros conductores pasivos sino que lo hacen de forma diferente según la dirección en que sean utilizados.

Durante el periodo diastólico o de potencial de reposo, la membrana de las células miocárdicas es impermeable a todos los iones excepto al K^+ . La concentración intracelular de K^+ permanece alta, y la de Na^{++} baja gracias a la acción de la bomba de Na^{++} que depende de la energía aportada por la sodio-potasio adenosin trifosfatasa (Na^{++} , K^+ ATPasa). La bomba de Na^{++} transporta

tres iones de sodio fuera de la célula, por medio del gradiente electroquímico, por cada dos iones de K^+ hacia el interior (Rubart M y Zipes DP, 2013).

Al mantenimiento de la negatividad intracelular contribuyen las cargas negativas de grandes iones como las proteínas que no atraviesan la barrera.

Los iones de Cl^- se distribuyen pasivamente de acuerdo con el potencial de membrana de reposo, siendo su concentración baja en el interior de la célula en reposo debido a que el potencial negativo dentro de la célula conduce dichos iones hacia fuera de la célula.

Los iones Ca^{++} contribuyen escasamente al potencial de membrana de reposo, aunque cambios en su concentración dentro de la célula pueden afectar a la permeabilidad de la membrana a otros iones como por ejemplo a la conductancia de K^+ que aumenta al incrementarse el Ca^{++} intracelular. La concentración de Ca^{++} dentro de la célula depende de varios mecanismos, fundamentalmente de la captación por el retículo sarcoplásmico, pudiendo existir también un intercambio sodio-calcio a través de la membrana celular, que depende en parte del mantenimiento del gradiente de concentración del ión sodio por la bomba de sodio. En condiciones normales se intercambia un ión de calcio intracelular por dos o tres iones de sodio extracelulares.

Si la célula se estimula artificialmente o por activación propagada, desaparece el potencial de reposo y el interior puede llegar a ser 30 mV positivo con respecto al exterior. Esta fase se denomina despolarización rápida o “**fase 0**” y da origen al “**potencial de acción**” cardíaco (Figura 3). La diferencia entre el potencial de reposo y el nivel máximo del potencial de acción es la “amplitud del potencial de acción” (Rubart M y Zipes DP, 2013).

Para que ocurra la despolarización, el estímulo debe llevar el potencial de reposo de la membrana a un cierto valor denominado “**potencial umbral**”. El flujo iónico que condiciona la despolarización es, en la mayoría de las células, una corriente de entrada de Na^{++} (I_{Na}), que al estar cargado positivamente hace menos negativo al potencial de membrana. La velocidad máxima a la que ocurre la despolarización durante la fase 0 (fase 0 max) es la medida de la rapidez de entrada del sodio (corriente de entrada rápida) que es un canal ión-específico y es el mayor determinante de la velocidad de conducción para la propagación del potencial de acción. De esta forma, las fibras auriculares y las células de trabajo ventriculares poseen una despolarización rápida y una

velocidad de conducción rápida. En el nodo sinusal y en el nodo AV sin embargo, el flujo iónico responsable de la despolarización es una corriente lenta de entrada de iones calcio (I_{Ca-L}) de forma que las fibras del marcapasos sinusal y del nodo AV poseen unos potenciales de reposo menores, una fase lenta de despolarización rápida y una velocidad de conducción lenta.

La siguiente fase de **repolarización rápida** de la membrana celular o “**fase 1**”, se produce por la inactivación de las corrientes de entrada de Na^{++} y la activación de una corriente rápida y transitoria de Cl^{-} hacia el exterior de la célula (I_{Cl}).

Durante la “**fase 2**” de meseta o de **repolarización lenta** los movimientos iónicos que ocurren son los de intercambio sodio-potasio dependientes de la bomba de sodio por las que el K^{+} sale al exterior celular y los del calcio dependiente de corrientes lentas que se dirigen hacia el interior de la célula a través de los canales lentos específicos.

La “**fase 3**” de **repolarización final rápida** es el resultado de la salida de la célula de los iones K^{+} o también llamada corriente rectificadora tardía (I_{K}) produciéndose la negativización del potencial en su interior. No obstante, simultáneamente a la salida del ión K^{+} , hay una entrada de iones Ca^{++} y en menor medida de Na^{++} . Por tanto, la duración de la repolarización depende de flujos iónicos contrapuestos, lo que la transforma en un proceso lento y vulnerable de forma que su duración puede verse modificada.

Durante la “**fase 4**”, que es la fase de reposo, se produce la restitución de la concentración normal de iones realizado por las bombas de Na^{++} , K^{+} y Ca^{++} , proceso que consume energía (Rubart & Zipes, 2013).

La parte rápida del potencial de acción coincide en el tiempo y da origen al complejo QRS del electrocardiograma, que supone la activación de toda la masa celular de ambos ventrículos. Durante la porción lenta del mismo se produce el intervalo ST-T del electrocardiograma de superficie y las células recuperan su situación de reposo y su excitabilidad; Es el periodo de más dispersión en la actividad eléctrica de las diferentes células cardíacas.

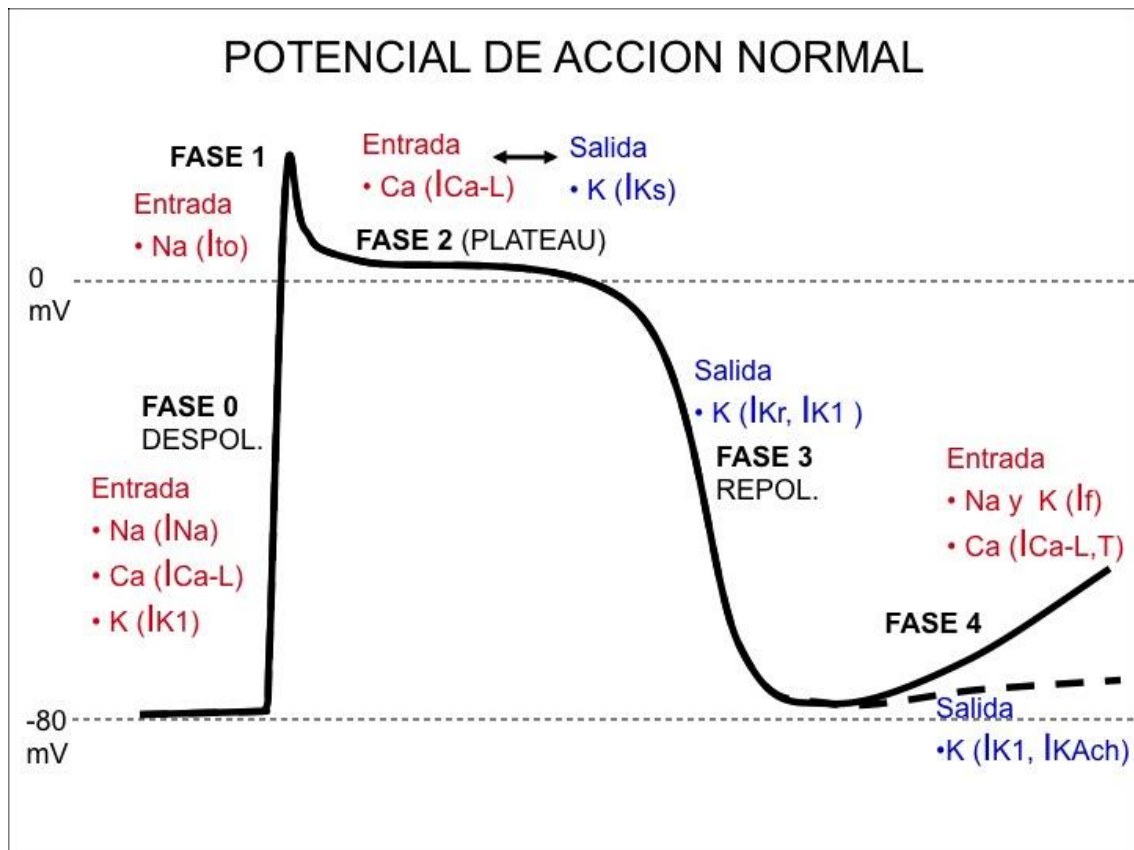


Figura 3. Potencial de acción de las células cardíacas

Durante la fase de meseta (fase 2) del potencial de acción transmembrana de una célula activable eléctricamente, esta es inexcitable, cualquiera que sea la intensidad del estímulo (periodo refractario absoluto). En la fase de reposo (fase 4) la célula ya es excitable y en general la intensidad umbral para activarla es estable si lo es el potencial de reposo de la fase 4, porque la membrana se ha reconstituido totalmente. Durante la fase 3 o de repolarización, a partir de cierto momento en que ya existe una recuperación parcial de la membrana, la célula va haciéndose excitable, pero se necesitan intensidades mucho mayores que durante la fase 4 para provocar su activación (periodo refractario relativo) (Rubart M y Zipes DP, 2013).

1.3.2. ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA CARDIACA

Bases de la estimulación cardiaca

La estimulación eléctrica programada del corazón es la base de los estudios electrofisiológicos en el hombre (Josephson ME, 2008). Las células cardiacas tienen la capacidad de responder ante estímulos mecánicos, eléctricos o químicos, generando un potencial de acción transmembrana. Esta propiedad de las células cardiacas se denomina **excitabilidad**. Una vez generado el potencial de acción en una célula, se estimulan las células vecinas, propagándose el estímulo y consiguiendo la despolarización del tejido. Esta capacidad de las células cardiacas de transmitir los impulsos se denomina **conductividad** (Del Blanco, 2012).

La estimulación eléctrica del corazón tiene por objeto lograr una excitación propagable del miocardio en contacto con el electrodo de estimulación. Se denomina **captura** cuando la excitación iniciada por un estímulo eléctrico aplicado, se propaga (Miller JM y Zipes DP, 2013). Para que el corazón sea estimulado, la corriente eléctrica tiene que pasar a través de una parte del mismo para cerrar el circuito entre los polos de la batería. En electrofisiología clínica, la corriente se aplica al corazón a través de electrocatéteres conectados al estimulador. En el electrocatéter, la corriente es conducida desde el generador hasta los electrodos a través de hilos conductores aislados entre sí y del cuerpo del catéter. Los electrodos son piezas externas de un metal de alta conductividad que, una vez colocado el catéter en posición, quedan en contacto con el miocardio.

La estimulación cardiaca puede ser bipolar o monopolar, pero en electrofisiología clínica, es habitual la utilización de la estimulación bipolar. De esta forma, el cátodo o polo negativo se conecta al electrodo distal, que habitualmente es el que tiene mejor contacto con el tejido, y el polo positivo o ánodo a un electrodo proximal cercano al anterior. La corriente que pasa por el miocardio fluye desde el electrodo negativo al positivo. Los estímulos eléctricos emitidos por los estimuladores convencionales, consisten en pulsos cuadrangulares de corriente continua que se caracterizan por su amplitud y

duración. La programación de ambos parámetros se puede realizar en los estimuladores, aunque algunos emiten estímulos de duración fija entre 0.5 y 2 ms (Miller JM y Zipes DP, 2013; Josephson ME, 2008).

Se denomina **umbral de estimulación** a la mínima energía requerida para lograr una excitación propagable del miocardio en contacto con el electrodo de estimulación. Todo estudio electrofisiológico comenzará con la determinación del umbral de aquellos puntos que se van a estimular, siendo esto siempre el paso previo al inicio del estudio. Para determinar el umbral, primero se selecciona la duración del impulso, utilizando generalmente 2 ms, ya que a corriente constante, el umbral no disminuye significativamente para impulsos de más de 2 ms de duración. En segundo lugar se selecciona una frecuencia de estimulación por encima de la sinusal y que permita la captura estable de la cavidad seleccionada. La determinación del umbral se puede hacer de dos formas, estimulando el corazón con impulsos de intensidad progresivamente decreciente o progresivamente creciente. Con el primer método, se selecciona una intensidad de estímulo alta (3-4 mA), que dé lugar a una captura constante, disminuyéndola en 0.5 mA cada 5 ó 6 estímulos. El umbral de estimulación será la intensidad más baja en la que no se produzca un fallo de captura en la cámara estimulada. En el segundo método, se selecciona es una intensidad muy baja (0.1 mA) y se va aumentando esta intensidad en 0,1 mA cada 5 ó 6 estímulos. El umbral de estimulación será la intensidad más baja en la que se produzca captura continua en la cámara estimulada.

Calculando los umbrales por ambos métodos, los resultados no son iguales, siendo más alto cuando se calcula con estímulos de intensidad creciente. Se considera como el método preferido para llevar a cabo la determinación del umbral de estimulación. Una vez determinado el umbral, la estimulación programada se realiza con una intensidad igual al doble del mismo (Del Blanco, 2012; Josephson ME, 2008)

Hay una serie de factores que pueden afectar al umbral de estimulación (Del Blanco, 2012; Josephson ME, 2008):

- El punto de estimulación: dentro de una misma cavidad, el umbral varía según el punto de estimulación, por lo que debe determinarse de nuevo cada vez que el electrodo se desplace.

-El contacto electrodo-tejido: cuanto mejor es el contacto, más bajo será el umbral.

-La superficie del electrodo activo: el umbral de estimulación aumenta proporcionalmente al aumento de la superficie del electrodo activo, es decir, los umbrales son más bajos conforme los electrodos son más pequeños.

-Tipo de estimulación: se obtienen mejores umbrales con la estimulación catódica frente a la anódica, y si la estimulación es con voltaje constante, el umbral resulta mayor con la estimulación bipolar que con la monopolar.

El **estimulador cardiaco** ha sido desarrollado y mejorado desde los comienzos de la electrofisiología clínica, ya que el valor de los estudios electrofisiológicos depende en gran medida del estimulador utilizado. Debe cumplir unas condiciones tales como poseer una fuente constante de corriente, preferiblemente y por seguridad aportada por baterías en lugar de por la red, no tener fugas de corriente, tener capacidad de estimular en un amplio rango de frecuencias con trenes de duración programable, ser capaz de introducir múltiples extraestímulos acoplados al tren basal de estimulación, con acoplamientos programables con una precisión de 1 ms, poder sincronizarse con las derivaciones del ECG o con los electrogramas apropiados durante los ritmos intrínsecos y estimulados, y tener la posibilidad de programar la energía de los estímulos variando su duración o su amplitud (Del Blanco, 2012; Josephson ME, 2008).

Formas de estimulación cardiaca

Las **formas de estimulación** vienen dadas por las características del estimulador, siendo básicamente de dos tipos: estimulación con frecuencias crecientes e introducción de extraestímulos (Del Blanco, 2012; Josephson ME, 2008)

Estimulación con frecuencias crecientes: las cámaras son estimuladas durante un periodo de tiempo con frecuencias progresivamente crecientes, siempre superiores a la frecuencia espontánea del corazón. Cuando la cámara estimulada es la porción superior de la aurícula derecha, se puede estudiar el automatismo sinusal, mediante la medida del tiempo de recuperación sinusal

(TRS) tanto basal como corregido, valorar la conductividad auriculoventricular mediante la determinación del punto de Wenckebach, estudiar la conductividad anterógrada de las vías accesorias AV e interrumpir o inducir arritmias. Cuando la aplicación del estímulo se hace en el ventrículo, se estudian la presencia y las características de la conducción ventriculoatrial, se analiza la secuencia de activación auricular retrógrada para valorar la presencia de vías accesorias AV, la conductividad retrógrada de las vías accesorias AV y la inducción e interrupción de ciertas taquicardias.

Introducción de extraestímulos: La estimulación programada consiste en la introducción de estímulos acoplados, bien durante el ritmo propio del paciente, o durante un ritmo estimulado. A los estímulos acoplados se les denomina extraestímulos, y el acoplamiento es el intervalo que existe entre el extraestímulo y el impulso precedente.

Introducción de extraestímulos sobre un ciclo base: El ciclo base de estimulación es el intervalo de tiempo que existe entre dos impulsos consecutivos del ritmo regular estimulado durante el cual van introducirse los extraestímulos. Los estímulos del ciclo base se denominan S1; A1, H1 y V1 son, respectivamente, los electrogramas de la aurícula, haz de His y el ventrículo que dependen de S1. Al primer extraestímulo se le denomina S2, e igualmente A2, H2 y V2 los electrogramas que genera. Si se acoplan más extraestímulos se designarán como S3, S4... Para determinar los periodos refractarios auriculares, las propiedades de la conducción anterógrada por el sistema de conducción AV y las vías accesorias, y para desencadenar taquicardias, se introducen los extraestímulos sobre un ciclo de base en la aurícula derecha. Los extraestímulos se introducirán sobre un ciclo de base en el ventrículo cuando lo que se quiere determinar es el periodo refractario ventricular, las propiedades de la conducción retrógrada por el sistema de conducción AV y las vías accesorias y para desencadenar taquicardias. Cuando se utiliza un extraestímulo auricular o ventricular acoplado sobre un ciclo base, éste debe ser más corto que el ciclo sinusal para asegurar la captura de la cámara estimulada.

Se suelen utilizar 8 estímulos para el ciclo base porque se considera que es el número mínimo para que las condiciones electrofisiológicas sean estables. Es fundamental que todos los estímulos del ciclo base capturen la cámara estimulada, y para asegurarlo, el inicio del tren básico debe “acoplarse” al ritmo espontáneo del paciente con un intervalo igual al ciclo base.

Los extraestímulos se introducen acoplados al último estímulo del tren básico, con acoplamientos progresivamente decrecientes de 10 en 10 ms, hasta que un extraestímulo no produce captura en la cámara estimulada. Se considera entonces que se ha encontrado el periodo refractario efectivo de dicha cámara. Con relativa frecuencia aparecen repuestas auriculares o ventriculares repetitivas durante la extraestimulación. Este tipo de respuestas plantea dos problemas, por un lado, que la inducción de respuestas repetitivas auriculares alerta sobre el riesgo de inducir fibrilación auricular con acortamientos posteriores del extraestímulo, y en segundo lugar, que si un extraestímulo desencadena dichas respuestas repetitivas y queremos acoplar un nuevo extraestímulo, el acoplamiento fijo del primer extraestímulo debe ser más largo que el acoplamiento al que se iniciaron las respuestas repetitivas. (Del Blanco, 2012; Josephson ME, 2008)

Introducción de extraestímulos sobre el ritmo del paciente: En esta modalidad, el primer extraestímulo se acopla sobre el propio ritmo del paciente y se utiliza para medir el tiempo de conducción sinoauricular y con menor frecuencia para inducir ciertas taquicardias (Narula OS et al., 1978).

1.3.3. FUNCIÓN SINUSAL

La función sinusal básica viene dada por la generación y transmisión a la aurícula de los impulsos a una frecuencia que se adapte a las necesidades biológicas del organismo. Para ello, el automatismo intrínseco de las células marcapasos del nodo sinusal está regulado por las influencias locales, endocrinas y sobre todo, por el sistema nervioso vegetativo.

El inicio del impulso cardíaco reside en la zona situada en la inserción de la vena cava superior en la aurícula derecha (Del Blanco, 2012; Josephson ME, 2008).

Desde el punto de vista anatómico corresponde al nodo sinusal, estructura subepicárdica localizada en la región del sulcus terminalis.

El nodo sinusal está compuesto por un entramado de fibras de colágeno entre las que se distribuyen tres tipos de células: las células P (células claras), las células T (transicionales), y las células auriculares banales. También presenta numerosas terminaciones nerviosas tanto de tipo adrenérgico como colinérgico. Siendo el nodo sinusal el marcapasos primario del corazón, se conoce que las células marcapasos en la aurícula tienen una distribución más compleja y probablemente excede los límites anatómicos del nodo sinusal. A lo largo del sulcus terminalis se distribuyen cada uno de estos centros de automatismo de forma que las frecuencias más altas corresponden al centro con una localización más alta en el sulcus y las frecuencias más bajas corresponden al centro inferior. La actuación farmacológica sobre el tono vegetativo produce el desplazamiento del origen de la activación de un centro a otro. Estas observaciones sugieren que pueden existir varios centros automáticos dentro del nodo sinusal, y que existen células marcapasos latentes fuera del mismo (Del Blanco, 2012).

La introducción de las técnicas de registro intracelular con microelectrodos ha confirmado el origen del impulso cardiaco en el nodo sinusal, y también ha demostrado que la zona de origen no es fija. Clásicamente se ha sugerido que el automatismo se produce en las células P, mientras que la transmisión del impulso a las células miocárdicas comunes se realiza a través de las células transicionales (James TN et al., 1966). Sin embargo, estudios más recientes se han descrito tres tipos celulares nodales: células espinosas, células espinosas largas y células araña (Verheijck EE et al., 1998). Todas ellas presentan una distribución uniforme en distintos puntos del nodo sinusal, y tienen capacidad de automatismo. Estos hallazgos deberían hacer revisar el concepto de especialización funcional de las células sinusales.

Las características electrofisiológicas de las células marcapasos son: tienen un potencial diastólico bajo (-50 a -65 mV), muestran despolarización diastólica espontánea, cuando el potencial diastólico alcanza el umbral, se inicia una fase de activación con una subida de potencial o “fase 0” relativamente lenta en

relación con las células no especializadas del miocardio auricular, y la duración del potencial de acción de las células sinusales es mayor que el de las células no especializadas.

Respecto a las corrientes iónicas implicadas en la despolarización de fase 4 de las células marcapasos sinusales, es posible que la corriente de entrada de sodio contribuya a la despolarización, pero fundamentalmente se han implicado las corrientes de calcio y la corriente de potasio (Irisawa H y Hagiwara N, 1991).

Para que el impulso sea transmitido, se requiere que un grupo numeroso de células descarguen de forma sincrónica, aunque se desconocen los mecanismos de sincronización de estos grupos celulares.

La velocidad de conducción del impulso en el interior del nodo sinusal es muy baja (inferior a 0.05 m/s en las zonas centrales), posiblemente por la escasez de conexiones intercelulares, siendo también bajo el factor de seguridad de la transmisión, pudiendo producirse una conducción decremental, un bloqueo del impulso entre otros.

Estudios en conejos han observado que la invasión de la aurícula por el impulso sinusal se produce a través de la zona de la crista terminalis adyacente al nodo, propagándose desde aquí a toda la aurícula (Sano T y Yamagishi S, 1965).

El sistema nervioso autónomo, a través de la acción de las terminaciones nerviosas del mismo en el nodo sinusal, es un regulador importante de la frecuencia cardíaca que forma parte de un sistema de regulación más amplio destinado a ajustar la hemodinámica circulatoria a las necesidades de cada momento.

La frecuencia sinusal, en un momento estable, viene determinada por el equilibrio de la actividad del sistema nervioso simpático a través de las fibras cardioaceleradoras, y el parasimpático, cardioinhibidor, a través del vago. Cuando ocurre un cambio en esta situación, es detectado por los diversos receptores, que van a poner en marcha los reflejos vegetativos, que a su vez son regulados por los centros nerviosos superiores.

Un concepto a tener en cuenta es el de frecuencia cardíaca intrínseca (Jose, 1966), que es la frecuencia obtenida tras el bloqueo farmacológico del sistema

nervioso autónomo, que permanece estable durante los 20 ó 30 minutos siguientes y que se correlaciona con la edad.

Evaluación electrofisiológica de la función sinusal

La evaluación electrofisiológica de la función sinusal se lleva a cabo mediante la evaluación del automatismo y de la conducción sinoauricular mediante determinadas medidas electrofisiológicas.

EVALUACIÓN DEL AUTOMATISMO

Tiempo de recuperación del nodo sinusal (TRNS)

La medida del TRNS como valoración del automatismo sinusal se introdujo basándose en los estudios experimentales de Lange y Mandel et al. (Lange G, 1965; Mandel W et al., 1971). Tras un tiempo de supresión de la actividad sinusal por sobreestimulación auricular, la interrupción de la estimulación va seguida de una depresión transitoria de la función automática del nodo sinusal, que produce una pausa. Tras esa pausa el nodo sinusal va recuperándose progresivamente, hasta alcanzar su frecuencia basal. Se denomina TRNS al intervalo más largo entre el último latido auricular producido por sobreestimulación y el primer latido sinusal tras la estimulación, obtenido con cualquiera de las frecuencias y/o duraciones de la estimulación y expresado en milisegundos (Narula OS, 1972) (Figura 4). Se denomina Tiempo de recuperación del nodo sinusal corregido (TRNSC) a la diferencia en milisegundos, entre el TRNS y la duración del ciclo sinusal basal (CSB): $TRNSC = TRNS - CSB$.

El tiempo total que tarda el nodo sinusal en alcanzar la frecuencia previa al inicio de la estimulación es el denominado tiempo de recuperación total (TRT) (Cosín Aguilar J et al., 1988).



Figura 4. Tiempo de recuperación del nodo sinusal con ciclo de estimulación a 450 ms. La figura muestra las derivaciones I, II y V1, las derivaciones endocavitarias de la aurícula derecha, el ventrículo derecho, el haz de His y la curva de la presión arterial. Tras el ciclo básico de estimulación a 450 ms, el latido sinusal tras la estimulación aparece trascurridos 682 ms.

Para valorar el TRNS se debe tener en cuenta el efecto del tiempo durante el que se está estimulando y la frecuencia de estimulación que suele ser bipolar. Generalmente se utilizan periodos de estimulación de 30 segundos, con intervalos similares sin estimular, para facilitar la recuperación, que serán seguidos de nuevos periodos de estimulación de igual duración pero a frecuencias progresivamente mayores. La estimulación se inicia con una corriente dos veces superior al valor del umbral de estimulación, a una frecuencia discretamente por encima de la basal del paciente.

La frecuencia de estimulación es fundamental, pues a medida que se va aumentando la frecuencia, la pausa postestimulación aumenta, hasta alcanzar un máximo con frecuencias entre 110 y 140 latidos/minuto o lo que es igual,

entre ciclos de 550 y 450 milisegundos. A partir de esta frecuencia, el TRNS disminuye. Esto depende de varios factores:

- 1) Con las frecuencias más altas se produce algún grado de bloqueo de entrada de los estímulos en el nodo, con lo que la frecuencia real con la que se despolarizan las células nodales disminuye.
- 2) La alteración hemodinámica producida por la estimulación más rápida es mayor, pudiendo desencadenarse reflejos compensadores.
- 3) Pueden aparecer “ecos” sinusales que acorten el ciclo postestimulación.

El valor del TRNS depende, al igual que la frecuencia cardíaca, del tono vegetativo del sujeto, y no existe unanimidad sobre cual es el límite superior de la normalidad. Tampoco está aclarado el mecanismo por el cual la sobreestimulación auricular suprime la actividad marcapasos del nodo sinusal. Posiblemente se deba a una combinación de efectos entre los que cabe destacar:

- La liberación de acetilcolina en las terminaciones colinérgicas del nodo sinusal.
- El efecto de la estimulación alterando las funciones de la membrana, tales como alteración de las corrientes de K^+ (Lange G, 1965) o de Ca^{++} (Konishi T, 1976).
- Otros factores, tales como el cambio en el origen celular del marcapasos y el fallo en la conducción del impulso desde el interior del nodo sinoauricular hasta las aurículas. Para algunos autores la posibilidad de que el mecanismo responsable de la pausa postestimulación es por el bloqueo sinoauricular más que la supresión del automatismo.

Frecuencia cardíaca intrínseca y TRNS tras bloqueo autonómico

La sensibilidad diagnóstica de las pruebas electrofisiológicas aumenta en situación de bloqueo farmacológico del sistema nervioso autónomo (BFSNA). Asimismo, este bloqueo permite analizar la fisiopatología de una disfunción sinusal. Cuando se realiza el bloqueo farmacológico en sujetos normales, suele obtenerse una frecuencia intrínseca superior y un TRS inferior al de la situación

basal, lo que parece indicar la presencia de un predominio parasimpático “fisiológico”.

Cuando el TRNS basal y tras el BFSNA sean anormales, existe una disfunción sinusal intrínseca patente. La diferencia entre los valores del TRNS antes y después del BFSNA proporciona una idea del grado de compensación que ejerce el sistema nervioso autónomo. Si el TRNS basal es normal y tras el BFSNA es patológico, nos encontraremos ante una disfunción sinusal intrínseca basalmente oculta y compensada por una hiperactividad simpática. Si en situación basal el TRNS es anormal y tras el BFSNA se normaliza, estaremos ante una disfunción sinusal de carácter extrínseco debida a alteraciones de la regulación autónoma del nodo sinusal.

CONDUCCIÓN SINOAURICULAR

La conducción sinoauricular se ha evaluado mediante métodos de registro directo de potenciales del nodo sinusal y con métodos indirectos, los test de Strauss o de Narula que calculan el TIEMPO DE CONDUCCIÓN SINOAURICULAR (TCSA).

El test de Strauss (Strauss HC et al., 1973) está cimentado en el estudio de la conducción sinoauricular basado en la estimulación auricular programada. Es la también denominada “prueba de la estimulación auricular prematura”. La técnica consiste en la introducción de un extraestímulo auricular, de prematuridad creciente cada 8-10 latidos sinusales espontáneos, de modo que, comenzando en la última porción de la diástole, se va recorriendo ésta hasta encontrar el periodo refractario de la aurícula derecha.

Narula (Narula OS et al., 1978) sugirió un nuevo método para calcular el TCSA: la “estimulación auricular continua”. Mediante la aplicación de trenes cortos (ocho estímulos) de estimulación auricular lenta, a una frecuencia unos diez latidos por encima de la frecuencia sinusal más alta, deberían sobrepasar la arritmia sinusal y estabilizar la frecuencia sinusal, y probablemente no suprimiría de forma significativa el automatismo del nodo sinusal. Sugirieron que la finalización de esta secuencia de estimulación auricular debería dar

lugar a un ciclo auricular, que representa el tiempo de conducción de entrada y salida del nodo sinusal más la longitud del ciclo sinusal normal. Al ciclo postestimulación se le restaría el ciclo sinusal basal dividiéndose esta diferencia por dos y este resultado sería el TCSA. Esta medición se realiza tres o cuatro veces, y luego se obtiene la media de todas las mediciones. El método de Narula supone que la última aurícula estimulada penetra en el nodo sinusal (Figura 5).

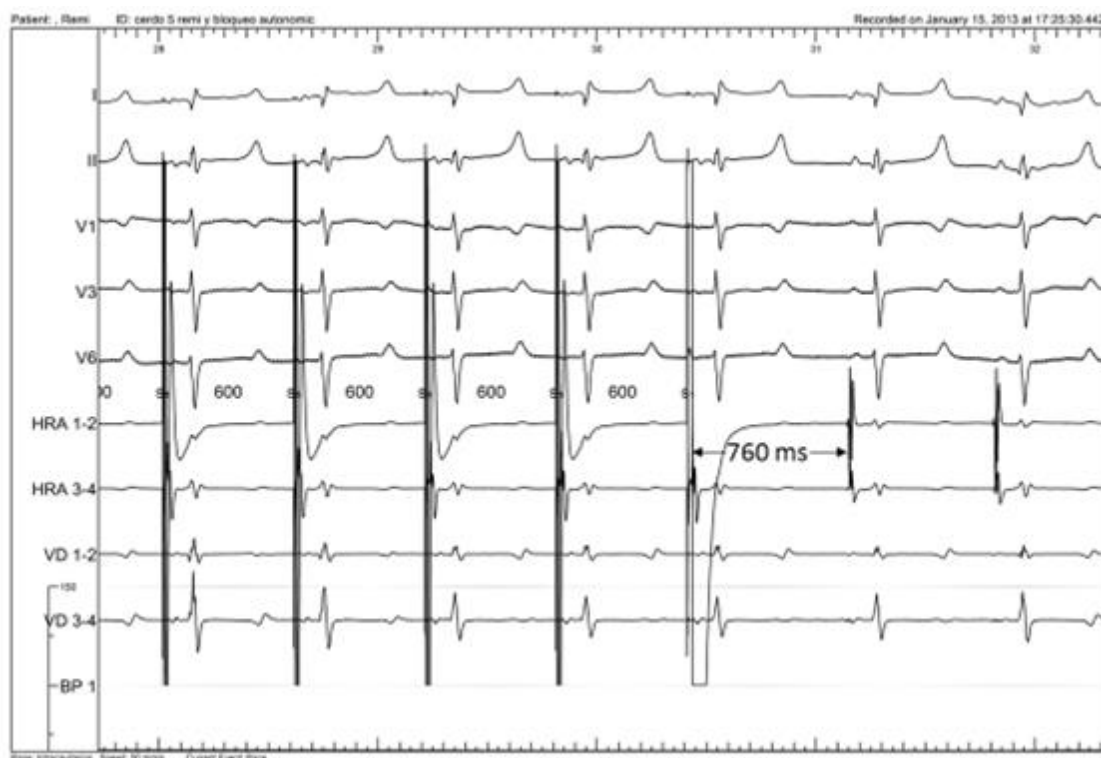


Figura 5. Evaluación del tiempo de conducción sinoauricular. Tiempo de recuperación del nodo sinusal evaluado con ciclo de estimulación de 600 ms. La figura muestra las derivaciones I,II, V1,V3 y V6 y las derivaciones endocavitarias de la aurícula derecha, el ventrículo derecho. Tras los 8 ciclos de estimulación auricular, el ciclo postestimulación aparece trascurridos 760 ms.

Entre ambos métodos existe una correlación razonable en ausencia de arritmias sinusales y de ritmos nodales, aunque el test de Narula tiene la ventaja de ser más rápido, no requiere ningún estimulador sofisticado y se puede aplicar en presencia de arritmia sinusal.

1.3.4. SISTEMA DE CONDUCCIÓN AV

Desde los primeros años tras la introducción de la electrofisiología clínica, el estudio de las propiedades del sistema de conducción humano y las alteraciones de la conducción aurículo-ventricular (A-V) fueron temas de gran interés, surgiendo desde entonces importantes aportaciones en este campo.

El sistema de conducción AV está compuesto de diferentes tipos de fibras con distintas características electrofisiológicas. La conducción, de forma general, se facilita cuando la fibra es gruesa y se dispone en sentido longitudinal.

La actividad eléctrica generada en el nodo sinusal se propaga a los tejidos vecinos y atraviesa la aurícula por rutas de conducción preferencial motivada por la disposición anatómica de los orificios naturales y la orientación de las bandas gruesas de la musculatura auricular. Se considera que existen vías de conducción preferencial internodal a través de los haces internodales anterior, medio y posterior (Del Blanco, 2012; Josephson ME, 2008).

El nodo AV es una estructura reticular situada en la parte derecha del tabique interauricular. Las ondas de activación llegan al nodo AV por un doble frente de ondas: una vía posterior a lo largo de la crista terminalis, que penetra en el nodo por debajo del orificio del seno coronario, y una entrada anterior, en forma de una amplia onda de activación, que lo aborda por arriba y por delante de este orificio (Janse MJ et al. , 1976).

Se considera el nodo AV como la zona de tejido de conducción especializado histológicamente distinto de las células de trabajo, que sirve de conexión entre las células miocárdicas auriculares y las ventriculares, y en la que la conducción se lentifica. De este modo el nodo AV tiene función de filtro protector del ventrículo frente a ritmos rápidos auriculares.

En estudios realizados con microelectrodos en el corazón del conejo (Janse MJ et al., 1976) se distinguieron tres zonas, no bien delimitadas anatómicamente, pero con características electrofisiológicas diferenciales: una zona próxima a las células auriculares, o zona AN, una zona central más compacta o zona N, y una zona más próxima y enlazada con el haz de His, o zona NH. Los potenciales de acción transmembrana (PAT), así como la velocidad de conducción, van cambiando de una forma paulatina de una zona a otra.

Aunque las corrientes de Na^+ y K^+ pueden estar presentes en mayor o menor grado, son las corrientes de Ca^{++} las que tienen un papel relevante en el PAT del nodo AV. Es en la parte central del nodo AV o zona N, donde la conducción es más lenta, y donde se producen la mayor parte de los incrementos en los tiempos de conducción y el bloqueo de los impulsos. En la parte más distal, NH, la activación es más rápida y sincrónica. La conducción intranodal retrógrada sigue un patrón de activación inverso, siendo superponibles las zonas de retardo.

Existen también células nodales que no participan en la transmisión del impulso, aunque son excitadas, denominadas “vías muertas intranodales” (Janse MJ et al., 1976).

A partir del nodo AV, la onda de excitación despolariza el tronco del haz de His, sus ramas y la red de Purkinje, hasta encontrar el miocardio ventricular. El sistema de Purkinje funciona como un cable aislado que trasmite el impulso sin activar el miocardio adyacente. La despolarización de las células se hace en sentido longitudinal, hasta llegar al miocardio, dada su disposición anatómica.

El sistema His Purkinje adopta una disposición trifascicular. El PAT del sistema His Purkinje posee una gran dependencia de la corriente de entrada rápida de Na^+ , siendo la corriente de Ca^{++} de gran importancia en el mantenimiento y definición de la fase 2. La velocidad de conducción es alta y no homogénea, aumentando progresivamente desde el tronco del haz de His hasta la red de Purkinje. El tiempo de conducción global, definido en electrofisiología como el intervalo HV, oscila entre 35 y 55 ms.

Las fibras de la unión red de Purkinje - fibra muscular tienen unas características diferentes a las fibras de Purkinje, tanto histológicas como electrofisiológicas, constituyendo una discontinuidad anatómico-funcional. La duración del PAT es mayor y la velocidad de conducción disminuye, pudiéndose producir de forma anterógrada, bloqueos de la conducción, constituyendo una barrera de protección para el músculo ventricular ante frecuencias rápidas (Myerburg RJ, 1971).

La secuencia de activación ventricular es bastante constante, comenzando de forma sincrónica entre áreas diferentes del endocardio de la cavidad ventricular izquierda, en la zona paraseptal anterior, debajo de la válvula mitral, en el centro del tabique interventricular, y en un área posterior paraseptal inferior

entre el apex y la base (Sodi Pallarés D et al., 1951). La activación avanza con gran rapidez en el endocardio y subendocardio del ventrículo izquierdo, confluyendo muy pronto estas tres áreas. A los 28 –50 ms, ya ha sido activado todo el endocardio ventricular izquierdo, salvo las zonas posterobasales, empezando a aparecer la activación en las porciones epicárdicas. La activación del ventrículo derecho comienza después que la del izquierdo, activándose primero la porción de endocardio que rodea la base del pilar anterior, progresando desde allí hacia el tabique y la pared libre del ventrículo derecho.

La activación epicárdica depende de la distribución de la propia red de Purkinje por el endometrio así como del grosor, de la ordenación fibrilar y de las propiedades anisotrópicas del miocardio ventricular. La primera zona epicárdica en activarse es el área pretrabecular del ventrículo derecho, a 20 – 35 ms de la activación endocárdica izquierda. Las últimas zonas en activarse son las posterobasales próximas al epicardio del tabique interventricular, en el ventrículo izquierdo, y las zonas del surco AV, de la pulmonar y del área posterobasal del epicardio del ventrículo derecho que corresponden a zonas sin aclopiamiento Purkinje-músculo.

En la Figura 6 se representa el sistema específico de conducción con los correspondientes potenciales de acción, velocidad de conducción y refractariedad en cada nivel.

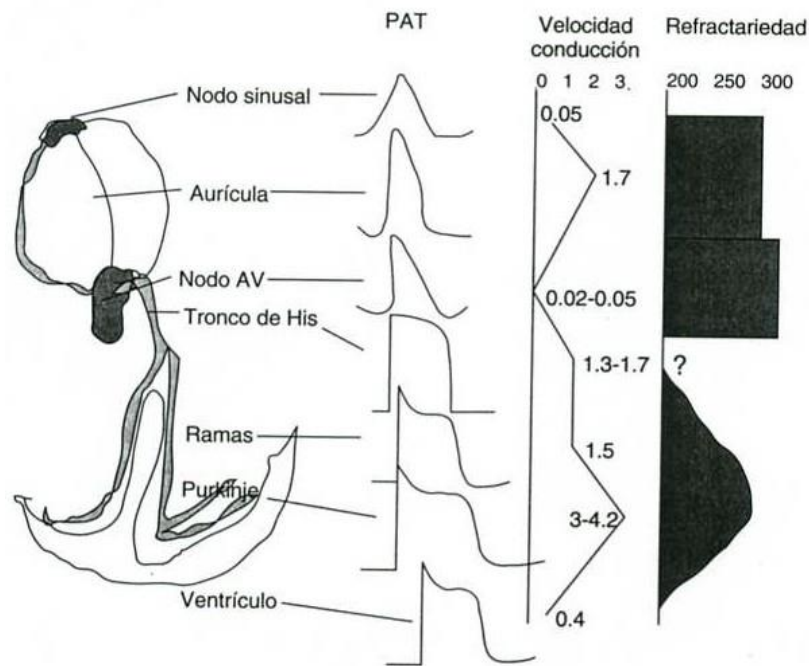


Figura 6. Representación esquemática del sistema de conducción específico, con los potenciales de acción, velocidad de conducción y refractariedad en cada nivel. Modificado de López Merino (López Merino V y Ferrero JA, 1997)

Electrofisiología clínica de la conducción AV

El método de estudio de la conducción AV requiere la obtención de los registros basales del electrograma del His, la estimulación con frecuencias progresivamente crecientes y la introducción de extraestímulos.

Intervalos de conducción AV en el hombre:

El análisis clásico del intervalo PR del electrocardiograma reproduce el conjunto de eventos que se producen entre la descarga sinusal y la despolarización ventricular. La introducción del registro del electrograma del His, deflexión bi o trifásica interpuesta entre los electrogramas auricular y ventricular, ha permitido descomponer la conducción AV en tres intervalos: PA, AH, VH, obteniéndose una información más detallada de los tiempos de conducción AV (Scherlag BI et al., 1969) (Figura 7).

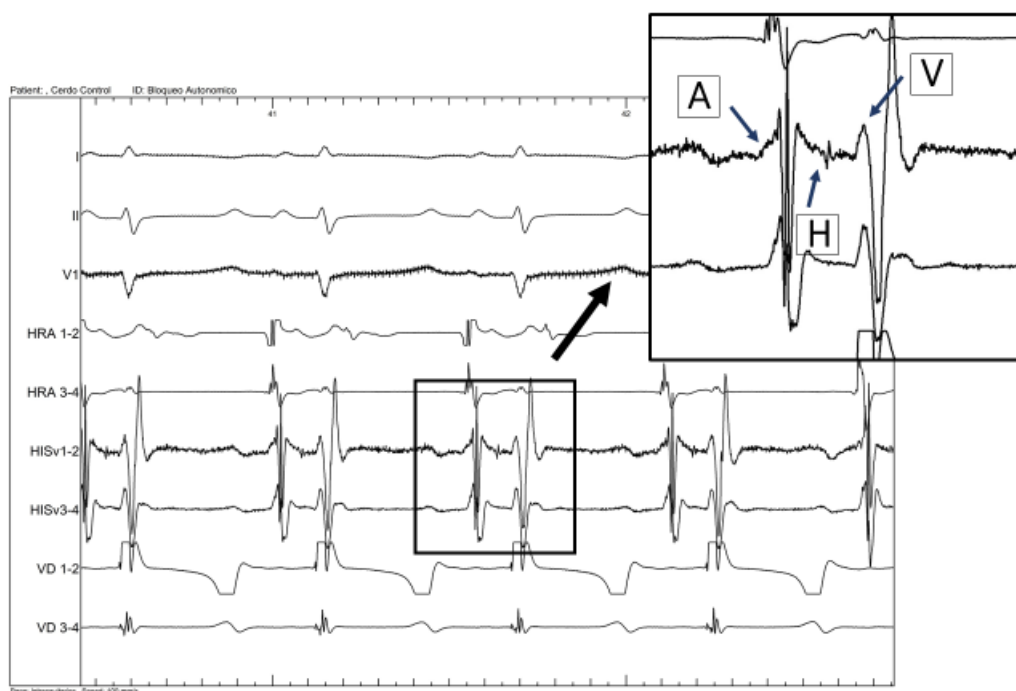


Figura 7. Intervalos de conducción. La figura muestra las derivaciones I, II y V1, las derivaciones endocavitarias de la aurícula derecha, el haz de His y el ventrículo derecho. A: electrograma auricular, H: electrograma de HIS, V: electrograma ventricular

INTERVALO PA: La secuencia normal de la activación auricular y el tiempo de conducción interauricular no se han estudiado ampliamente. Muchos investigadores han utilizado el intervalo PA, medido desde el comienzo de la onda P al comienzo de la activación auricular en los electrogramas de registro del haz de His (EHH), como una medida de la conducción interauricular a pesar de los problemas técnicos. En todo caso reflejaría la conducción auricular derecha desde el nodo sinusal hasta la entrada del impulso en el nodo AV.

INTERVALO AH: Representa el tiempo de conducción del impulso desde la porción inferior de la aurícula derecha, a nivel del tabique interauricular, hasta la entrada del haz de His. Representa por tanto el tiempo de conducción nodal, y la medida se realiza desde el comienzo de la deflexión del electrograma auricular, al comienzo de la deflexión hisiana en los registros obtenidos en el EHH. Se modifica, fundamentalmente por las alteraciones el sistema nervioso

autónomo, por la frecuencia de estimulación auricular y en menor medida por la edad.

INTERVALO HV: Representa el tiempo de conducción desde el tronco del haz de His proximal al miocardio ventricular. Corresponde al tiempo de conducción His-Purkinje, medido desde el comienzo de la deflexión hisiana al comienzo del ventriculograma o complejo QRS del electrograma de superficie. Se afecta poco por las variaciones del tono vegetativo y la frecuencia cardíaca, y puede reproducirse en el tiempo.

1.3.5. REFRACTARIEDAD

La refractariedad de los tejidos cardíacos puede definirse por la respuesta del tejido a la introducción de estímulos prematuros progresivamente decrecientes. La refractariedad en electrofisiología se expresa en términos de tres medidas: periodo refractario relativo, efectivo y funcional.

El periodo refractario relativo (PRR) es el intervalo de acoplamiento más largo de un impulso prematuro que produce una prolongación de la conducción del impulso prematuro en comparación con el del tren básico de estimulación. Así este periodo marca el final del periodo de recuperación total, la zona donde la conducción del impulso prematuro y el impulso del tren de estímulos es idéntica.

El periodo refractario efectivo de un tejido cardíaco es el intervalo de acoplamiento más largo de un impulso prematuro que falla en propagarse en el tejido en el que se realiza la estimulación.

El periodo refractario funcional de un tejido cardíaco es el intervalo mínimo entre dos estímulos consecutivos conducidos en un determinado tejido.

El concepto de periodo refractario debe aplicarse a cada componente del sistema de conducción AV, es decir, a la aurícula, nodo AV, sistema His-Purkinje y ventrículo, pudiendo estimarse de forma tanto anterógrada como retrógrada.

En electrofisiología cardíaca clínica, la refractariedad de los tejidos depende fundamentalmente de la intensidad de la corriente con que se estimula y de la longitud del ciclo de base. La medida de los periodos refractarios efectivos, está inversamente relacionadas con la intensidad de la corriente. De forma estandarizada, los estudios en los laboratorios de electrofisiología se realizan con estímulos doble del umbral diastólico, dado que tiene una gran capacidad de reproducción con muy baja incidencia de inducción de arritmias no clínicas. La refractariedad varía con los cambios previos de la longitud del ciclo, por lo que para evitar los cambios que podrían producir las variaciones del ritmo sinusal, latidos prematuros, etc, los periodos refractarios se obtienen manteniendo fija la frecuencia basal en valores fisiológicos, entre 1000 – 500 ms, mediante un tren de 8 – 10 latidos al que se acoplan extraestímulos con prematuridad decreciente hasta llegar a entrar en el periodo refractario efectivo. Las mediciones de los periodos refractarios auricular o ventricular se realizan en el lugar de estimulación, y el del nodo AV y el sistema His-Purkinje en los electrogramas del His. (Figuras 8, 9 y 10).

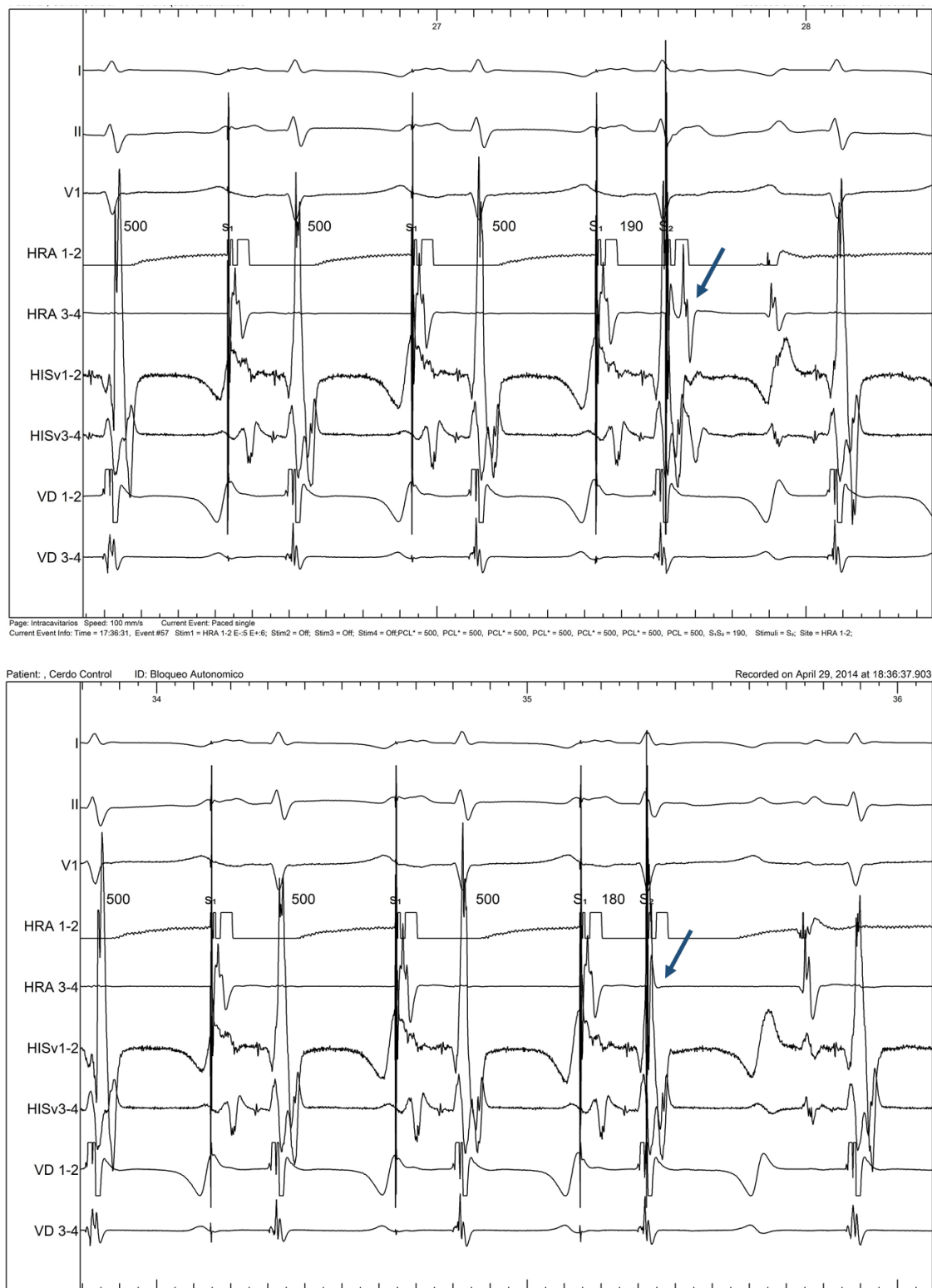


Figura 9. Evaluación del periodo refractario efectivo de la aurícula derecha. La figura muestra las derivaciones I, II y V1, las derivaciones endocavitarias de la aurícula derecha, el ventrículo derecho, el haz de His. En el panel superior tras el ciclo básico de estimulación a 500 ms, la aplicación de un extraestímulo a

190 ms se sigue de un electrograma auricular. En el panel inferior un extraestímulo a 180 ms no se sigue de una respuesta auricular.

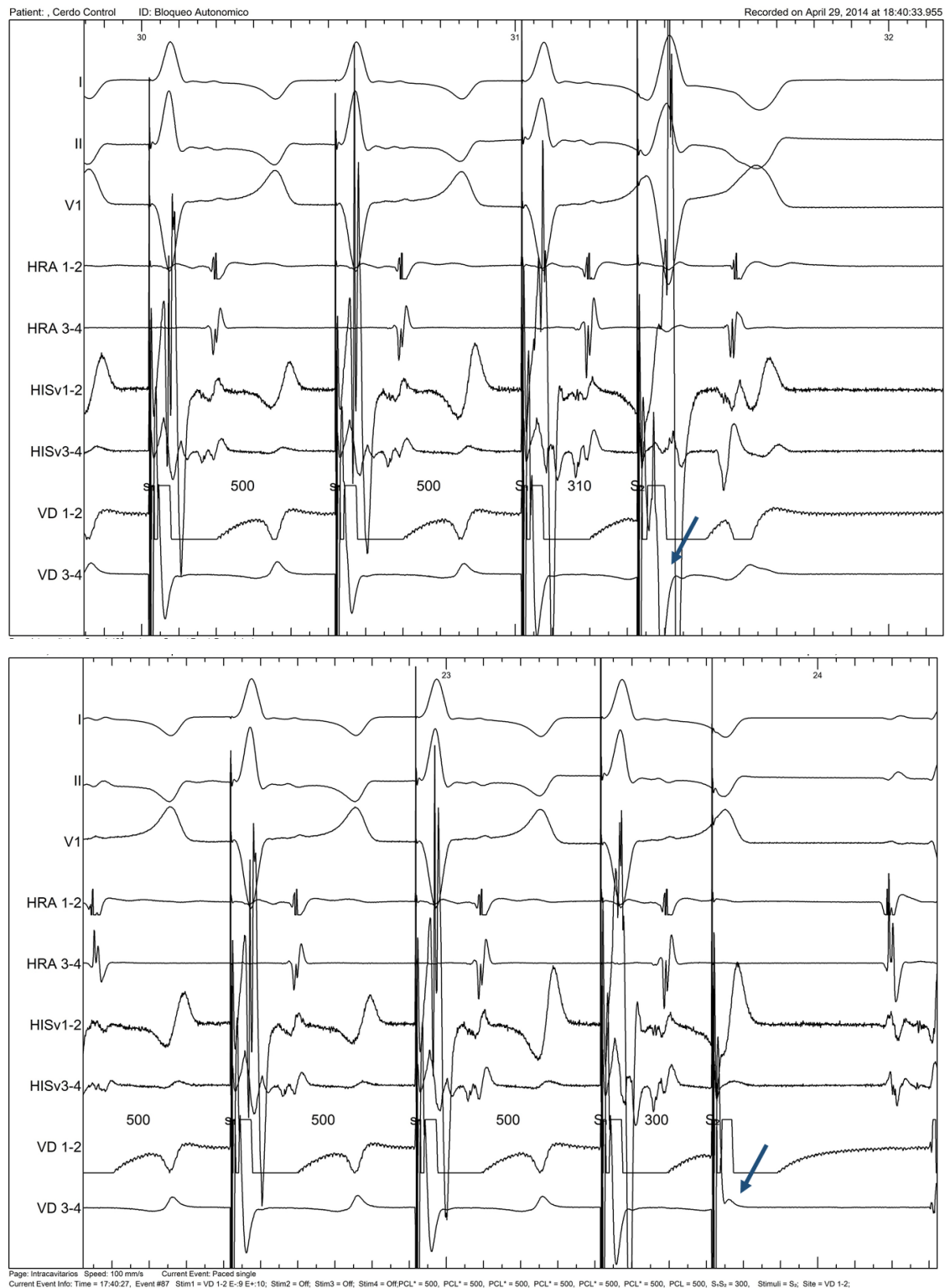


Figura 10. Evaluación del periodo refractario efectivo del ventriculo derecho. La figura muestra las derivaciones I, II y V1, las derivaciones endocavitarias de la

aurícula derecha, el ventrículo derecho, el haz de His y la curva de la presión arterial. En el panel superior tras el ciclo básico de estimulación a 500 ms, la aplicación de un extraestímulo a 300 ms se sigue de una respuesta ventricular. En el panel inferior un extraestímulo a 310 ms no se sigue de una respuesta ventricular.

Respuesta a la estimulación auricular rápida:

El nodo AV ejerce un papel de filtro para que los estímulos reiterados que llegan desde la aurícula sufran un retraso en función de la frecuencia de llegada. La respuesta fisiológica a la estimulación con frecuencias progresivamente creciente es el alargamiento paulatino y progresivo del intervalo AH, transformándose en un bloqueo AV de segundo grado a partir de cierta frecuencia. Esta frecuencia crítica suele conocerse como Punto de Wenckebach (PW), y en condiciones normales debe encontrarse por encima de 150 lat/min. La determinación del PW está relacionada con la refractariedad del nodo AV. Dadas las características de la estimulación con frecuencias crecientes, con aparición de fenómenos de acomodación y fatiga, el ciclo en el que se presenta el fenómeno no coincide con el PRE ni con el PRF del nodo AV determinados mediante la prueba del extraestímulo (Janse MJ et al., 1976). Si se continúa aumentando la frecuencia de estimulación, se llegará a bloqueo AV 2:1 o de mayor grado. El intervalo HV no se suele modificar o lo hace mínimamente, con los aumentos de frecuencia.

El fenómeno de acomodación se define como la aparición de cambios transitorios, en el intervalo de conducción AV, producidos al variar la frecuencia de estimulación y que desaparece al alcanzar una nueva situación estable.

Se define el fenómeno de fatiga como el empeoramiento de la conducción AV producido por una frecuencia rápida y mantenida.

Mediante estudios con microelectrodos, se ha observado que las respuestas bloqueadas en el nodo AV dan lugar a potenciales de acción con una menor amplitud y velocidad de ascenso a medida que avanzan en la estructura cardiaca. Es la llamada conducción decremental, que expresa la disminución

de la amplitud del potencial de acción dependiente de la frecuencia. (Del Blanco B, 2012).

Electrofisiología clínica de la conducción VA

La conducción VA se encuentra en aproximadamente el 70% de los pacientes que mantienen indemne la conducción anterógrada. Desde el ápex del ventrículo derecho, y con frecuencias de estimulación progresivamente crecientes, en casi el 90% de los casos se produce en el nodo AV un bloqueo de segundo grado tipo Wenckebach (Figura 11).

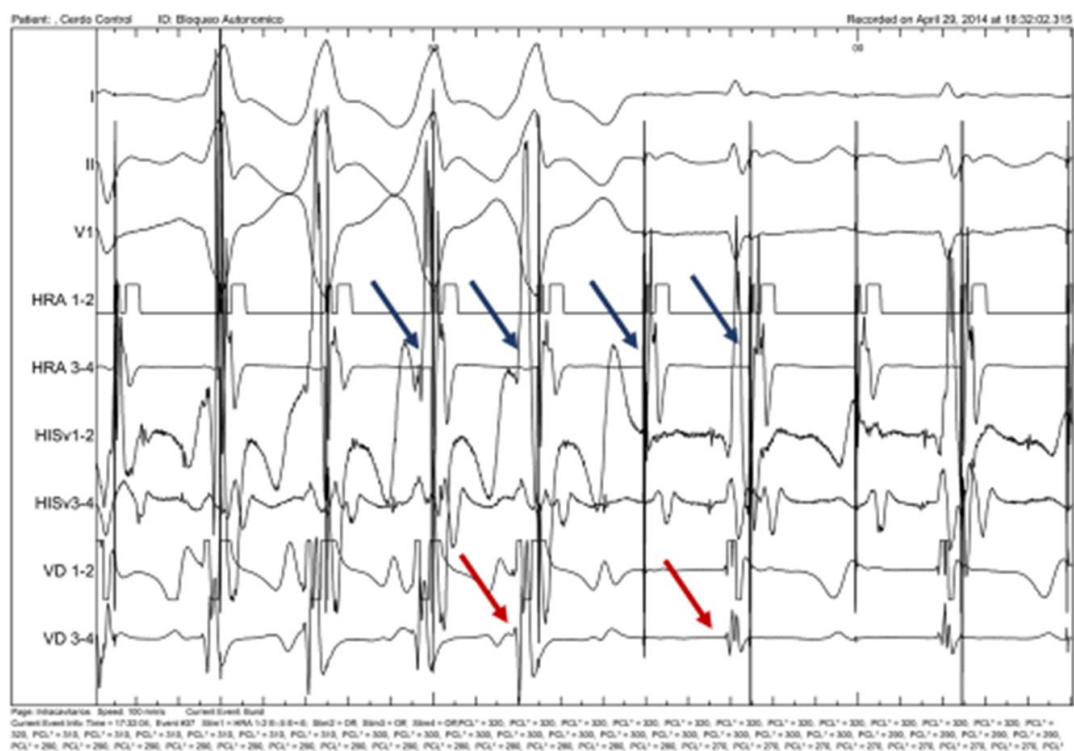


Figura 11: Punto de Wenkebach. Se observa el ciclo de estimulación en el que la conducción AV comienza a ser de 2:1. Los estímulos auriculares están señalados con felchas en color azul. La despolarización ventricular señalada con flechas rojas.

En algunos pacientes, aunque en un porcentaje pequeño, la conducción VA se mantiene constante, con mínimos incrementos hasta frecuencias máximas,

debido probablemente a un nodo AV hiperconductor en sentido retrógrado. La presencia o no de conducción VA carece de significado clínico claro (Nieto J et al., 1987).

La conducción retrógrada es más difícil de delimitar que la conducción anterógrada, debido a la ausencia de visualización de la deflexión hisiana que queda englobada en el ventriculograma, por lo que la comparación entre ambas resulta imposible.

Sistema nervioso autónomo y conducción

El nodo AV tiene una gran inervación, y aunque dicha inervación es bilateral, los nervios procedentes de la parte izquierda ejercen un mayor efecto sobre la conducción nodal que los derechos.

La estimulación vagal provoca una prolongación del tiempo de conducción nodal secundariamente a un efecto directo, no dependiendo de las variaciones de la frecuencia cardíaca. La estimulación vagal izquierda produce bloqueos AV de primer o segundo grado, con un alargamiento previo del intervalo AH. Sobre los periodos refractarios, la estimulación vagal produce un aumento significativo, sobre todo en el PRE del nodo AV. Sin embargo no se modifican ni el intervalo HV ni los periodos refractarios del sistema His-Purkinje (Del Blanco, 2012; Josephson ME, 2008; Valentín V et al., 1987).

La estimulación simpática, o la utilización de fármacos que tengan acción sobre el sistema nervioso autónomo como isoproterenol o adrenalina, acelera la conducción del nodo AV, con acortamiento del intervalo AH, y disminución de los PRF y PRE del nodo AV. El intervalo HV se acorta ligeramente o no existen modificaciones significativas (Dhingra RC et al., 1973).

El efecto de la denervación quirúrgica o farmacológica sobre la conducción AV se ve influido por el estado autónomo basal previo a la denervación, así como por el modelo de estudio. En el hombre, con un predominio basal vagal, el bloqueo del sistema nervioso autónomo no provoca cambios significativos en el intervalo AH ni en el PW, pero el PRF y el PRE del nodo AV si disminuyen significativamente (Tonkin AM et al., 1980).

Alteraciones de la conducción AV

La localización de los bloqueos AV ha sido posible gracias a la introducción en electrofisiología clínica del electrograma del haz de His. De esta forma, se han dividido en tres categorías: suprahisianos, intrahisianos e infrahisianos, según se encuentre el trastorno de conducción por encima de la deflexión hisiana, en el mismo tronco del haz de His o por debajo de él.

Bloqueos suprahisianos:

Bloqueos Auriculares

El trastorno de la conducción se encuentra entre el nodo sinusal y el aurículoventricular. El bloqueo de primer grado se reconoce por el alargamiento progresivo del intervalo PA. Se han observado bloqueos auriculares de segundo grado tras estimulación eléctrica auricular, provocándose un alargamiento progresivo entre los estímulos auriculares y la respuesta auricular no habiéndose descrito bloqueos de mayor grado.

Bloqueos Nodales

Cuando el trastorno de conducción está en el nodo AV, la alteración aparece entre la inscripción del auriculograma y la del potencial hisiano. El alargamiento del intervalo AH pone de manifiesto un bloqueo de primer grado. Los bloqueos de segundo grado son de tipo Mobitz I o de mayor grado: 2:1, 3:1, etc. La falta de respuesta ventricular intermitente se traduce en los periodos de Wenckebach por un alargamiento progresivo del intervalo AH, terminando cada ciclo en un auriculograma que no va seguido de deflexión hisiana. (Josephson ME, 2008).

Bloqueos tronculares

Se admite que el electrograma del haz de His refleja la despolarización de todo el tronco del His. Según esto se pueden diagnosticar bloqueos de primer grado, de segundo grado y bloqueos tronculares completos, siguiendo unos criterios diagnósticos (Josephson ME, 2008).

Bloqueos infrahisianos. Los bloqueos AV de primer grado infrahisianos se traducen por un alargamiento del intervalo HV con bloqueo de rama en el ECG. Los bloqueos de segundo grado Mobitz I se reconoce por un alargamiento progresivo del HV, hasta llegar al bloqueo de un latido después de la deflexión H. En el bloqueo tipo Mobitz II, el intervalo HV no varía en la secuencia de los latidos conducidos, produciéndose de forma brusca el bloqueo entre la deflexión H y V. El grado de bloqueo vendrá dado por el número de latidos conducidos antes del mismo. Los bloqueos infrahisianos de mayor grado se caracterizan porque cada dos o tres latidos, la conducción se interrumpe por debajo del tronco del His. El intervalo HV de los latidos conducidos puede ser normal o estar alargado.

En el bloqueo AV completo infrahisiano, el hisiograma demuestra una disociación completa entre la deflexión hisiana satélite al auriculograma y el complejo ventricular. El ritmo de escape será lento (García Civera R et al., 1999).

1.3.6.CONDUCCIÓN INTRAVENTRICULAR

La evaluación de la conducción intraventricular forma parte de los estudios rutinarios realizados en los laboratorios de electrofisiología. Así los mapeos del ventrículo derecho e izquierdo son de gran utilidad para el análisis de los defectos en la conducción ventricular, en la dispersión de la activación ventricular, en la recuperación de la excitabilidad y para localizar el origen de las taquicardias ventriculares. Para realizar el mapeo intraventricular, habitualmente se inserta de forma percutánea un catéter caudripolar a través de la vena femoral y se avanza hacia el ventrículo derecho bajo visión fluoroscópica. Mediante esta técnica se definen los parámetros normales de los

electrogramas ventriculares como su amplitud, duración y la relación entre ambos.

Las áreas específicas en las que el mapeo ventricular han mostrado utilidad son: la investigación en la denominada “pseudo” HV prolongación; los hallazgos de una dispersión anormal de la activación, refracteriedad, y recuperación total en condiciones de arritmogénesis; distinguir entre bloqueo proximal o distal de la rama derecha; para distinguir el bloqueo de rama izquierda de un retraso de la conducción ventricular; para definir el lugar de origen de una taquicardia ventricular; para localizar el lugar de la pre-excitación; para evaluar el grado de inter e intraventricular disincronía como predictor de la terapia de resincronización y localización óptima del electrodo en ventrículo derecho y para definir el substrato de arritmogénesis que puede ayudar a distinguir a los pacientes con predisposición a arritmias letales (Josephson ME; 2008).

1.3.7.DEFINICIONES

Con objeto de facilitar la lectura del texto anterior, a continuación se definen las diferentes variables electrofisiológicas utilizadas (García Civera R et al., 1999).

Longitud del ciclo sinusal basal: frecuencia cardiaca basal expresada en milisegundos

Tiempo de recuperación del nodo sinusal: el tiempo requerido para que retorne la actividad espontánea del nodo sinusal después de una estimulación auricular rápida durante un minuto.

Tiempo de recuperación del nodo sinusal corregido: la diferencia entre el tiempo de recuperación del nodo sinusal y el ciclo sinusal basal.

Periodo refractario efectivo de la aurícula derecha: la longitud del intervalo de acoplamiento de un estímulo atrial prematuro que sigue a un tren de 8 estímulos que no despolariza la aurícula.

Periodo refractario efectivo del ventrículo derecho: la longitud del intervalo de acoplamiento de un estímulo ventricular prematuro que no consigue despolarizar el ventrículo.

Periodo refractario efectivo del nodo AV: la longitud del intervalo entre dos impulsos auriculares que no llegan a propagarse al haz de His.

Punto de Wenckebach anterógrado: Es la frecuencia de estimulación auricular continua más lenta a la que la conducción AV deja de ser 1:1.

Tiempo de conducción sinoauricular: el tiempo que necesita el impulso desde el nodo sinusal para alcanzar el tejido auricular adyacente. Se mide indirectamente observando el efecto que un estímulo auricular prematuro provoca en el siguiente ciclo sinusal.

Intervalo AH: refleja el tiempo requerido en la conducción del nodo AV y se mide desde el electrograma auricular hasta la primera deflexión del His realizado en el electrograma del His.

Intervalo HV: el intervalo de tiempo necesario para la conducción a través del sistema de His-Purkinje medido desde la deflexión del His hasta la más precoz evidencia de despolarización ventricular.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio fue realizado en la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital Universitario Gregorio Marañón de Madrid, utilizando cerdos de la raza Mini Pig tras la aprobación por el comité de ética animal firmado por el Presidente: Fernando Asensio Rubio, el 24 de febrero de 2010.

Todos los animales recibieron un trato adecuado y se observaron todos los aspectos de la legislación que, sobre animales de experimentación y otros fines científicos se ha promulgado en la Unión Europea, en el Estado Español y en la Comunidad Autónoma de Madrid.

2. 1. LEGISLACIÓN

La legislación aplicada para la utilización de los animales durante los experimentos clínicos queda recogida a continuación:

Directiva del Consejo 86/609/C.E.E del 24 de Noviembre de 1986 sobre disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros sobre protección de animales usados para experimentación. Diario Oficial de las Comunidades Europeas nº L 358, 18 de diciembre de 1986.

Real Decreto 223/1988 de 14 de marzo sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos B.O.E. nº 67, 18 de marzo de 1988.

- Consejería de Agricultura y Cooperación. Orden 4 de agosto de 1989 por la que se dan normas sobre la protección de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. B.O.C.M. 24 de agosto de 1989.

Instrumento de ratificación del Convenio Europeo sobre protección de animales vertebrados utilizados con fines experimentales o científicos (Estrasburgo 18 de marzo de 1986). B.O.E. nº 256. 25 de octubre de 1990.

- Disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los estados miembros de la CEE respecto a la protección de los animales utilizados para la experimentación y otros fines científicos, de la Directiva del Consejo 86/609/CEE (leg. CC. EE. 4390) aprobada el 24 de noviembre de 1996.

2.2. PROTOCOLO DE ESTUDIO DEL BLOQUEO AUTONÓMICO EN EL CERDO

2.2.1 MATERIAL

ANIMALES

El estudio se realizó en dieciocho cerdos de la raza Mini Pig con un peso medio de 37 ± 9 kg, procedentes de la granja de la Comunidad de Madrid en el complejo Agropecuario de Aranjuez.

Los cerdos eran trasladados desde la granja al animalario del departamento 24-48 horas antes de la realización del estudio, manteniéndoles en ayuno para sólidos desde la noche previa al estudio. Figura 12



Figura 12. Animal en el área de premedicación, antes de recibir la dosis de ketamina intramuscular apropiada para su traslado al quirófano

MATERIAL ANESTÉSICO

El material anestésico utilizado para la realización del procedimiento fue el que se describe a continuación:

Catéteres endovenosos Boston Scientific® de calibre 7F y de 5F para la canalización de vías profundas. Medikit, Japan.

Sistemas de infusión intravenosa por gravedad con toma de aire antibacteriana.
Estéril, apirógeno y de un solo uso: Intrafix® Air de BRAUM.

Bombas de infusión IVAC 560. IVAC Medical Systems

Catéteres para canalización arterial. Boston Scientific® de calibre 6F. Medkit, Japan.

Sistemas arteriales de transductor único.

Mascarilla de ventilación facial

Tubos endotraqueales de PVC, números: 5, 5,5, 6, 6,5 (Mallinckrodt Medical, S.A. España)

Jeringuillas estériles de 2, 5, 10 y 20 ml. BD Plastipak™. (Becton Dickinson S.A.)

Monitor de ECG.

Monitor de oximetría y parámetros respiratorios DATEX-OHMEDA 5250 RGM.

Monitor de Tensión Arterial invasiva. Kolormon mc. Kontron instruments. LTD. Inglaterra.

Respirador DRÄGER® SA1.

Autoanalizador de gases. GEM® Premier 3000 para la determinación de pH, Gases Sanguíneos y Electrolitos.

Fármacos anestésicos:

- Propofol al 2% (Diprivan®); 2,6 diisopropilfenol; peso molecular 178,3), emulsión estéril, no pirógena que contiene 20 mg/ml de propofol vehiculizado en una emulsión grasa al 10%, del laboratorio AstraZeneca.
- Atropina 1mg/ml (Atropina Braun ; B. Braun Medical, S.A.)
- Propranolol 1 mg/ml (Sumial®), solución inyectable. Vía intravenosa. Laboratorio Icaro, S.A.
- Isoproterenol 0,2 mg/ml (Aleudrina®); sulfato de isoprenalina. Vía intravenosa muy lenta, intramuscular o subcutánea. Solución inyectable. Boehringer Ingelheim España, S.A.
- Acetilcolina cloruro al 1%; 10 mg/ml (Acetilcolina, Alcon Cusi S.A.)

2.2.2 MÉTODO

DISEÑO EXPERIMENTAL

El modelo experimental se realizó en cerdos de la raza Mini Pig mediante anestesia general con intubación orotraqueal y con el tórax cerrado. Los animales fueron premedicados para que tras su traslado a quirófano, se realizara la inducción de la anestesia general y la intubación orotraqueal.

El quirófano de la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital Universitario Gregorio Marañón de Madrid, está dotado con mesa de quirófano, máquina de anestesia, fármacos para realizar la anestesia y resucitación cardiopulmonar, iluminación apropiada, aspiradores además de todo el material necesario para realizar una intervención quirúrgica y numerosos procedimientos de estudio invasivo a nivel cardiovascular entre otros. Figura 13.



Figura 13. Imagen panorámica del quirófano de la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital Universitario Gregorio Marañón de Madrid.

Tras la instrumentalización necesaria se procedió a realizar el protocolo farmacológico completo, en función del grupo experimental asignado:

- A. Protocolo de estudio de la dosis de bloqueo autonómico en el cerdo**
- B. Protocolo de estudio de la duración del bloqueo autonómico simpático el cerdo**
- C. Protocolo de estudio de la duración del bloqueo autonómico parasimpático el cerdo**

DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO

Los animales una vez premedicados con ketamina intramuscular, eran trasladados a quirófano donde se procedía a la canalización de una vena periférica del pabellón auricular y se realizaba la inducción anestésica con propofol (Boschert K et al.,1996). Seguidamente se realizaba la intubación orotraqueal una vez que el animal alcanzaba un nivel de hipnosis adecuado. El nivel de hipnosis se valoraba mediante signos clínicos, objetivando que el animal estaba en apnea, y con relajación completa de la mandíbula. Para la intubación no se utilizaban ningún tipo de relajante neuromuscular. Para el mantenimiento de la anestesia se administraba propofol en perfusión continua con el objetivo de producir en el animal una anestesia adecuada, objetivándose con signos clínicos, ausencia de movimiento ante las diversas manipulaciones relacionadas con el experimento (básicamente la cateterización de la vena y arterial femoral) y con los datos de estabilidad hemodinámica. Se realizó ventilación mecánica controlada ajustando los parámetros de ventilación para conseguir cifras fisiológicas de PaCO₂, y el aporte de oxígeno fue del 100% durante todo el estudio. La temperatura de los animales se mantuvo cubriéndolos con mantas.

PROTOCOLO ANESTÉSICO

○ Premedicación

Unos minutos antes del comienzo del estudio, todos los animales fueron premedicados por vía intramuscular con Ketamina, en dosis de 20 mg/kg. Cuando el animal presentaba signos de adecuada sedación como permanecer sin agitarse en la jaula, no ser capaz de levantarse y no pretender la huida

ante la presencia del personal del animalario, se procedía a su traslado al quirófano. Figura 14.



Figura 14: Imagen de la técnica de premedicación del animal antes de su traslado al quirófano.

- **Inducción y mantenimiento anestésico**

Una vez en quirófano y colocado sobre la mesa quirúrgica, se canalizaba un acceso venoso en el dorso del pabellón auricular del animal para proceder a continuación a la inducción anestésica. Se utilizó propofol intravenoso, la dosis inicial administrada era de 4 mg/kg, pero la misma se modificaba en función de la respuesta clínica del animal, incrementándose si no presentaba un adecuado nivel de profundidad anestésica. A continuación se realizaba la ventilación del animal con mascarilla facial seguido de la intubación endotraqueal, sin utilizar relajante muscular alguno.

La ventilación mecánica se realizó con la máquina de anestesia: Respirador DRÄGER® SA1. Adaptando el volumen minuto para mantener normocapnia, utilizando una mezcla de oxígeno/aire. Se monitorizó el CO₂ espirado.

El mantenimiento anestésico se llevó a cabo con propofol en perfusión continua en dosis de 13-15 mg.kg⁻¹.h¹ siendo esta perfusión modificada si se presentaba algún signo clínico de superficialización anestésica. En este caso se

aumentaba la velocidad de infusión continua, o se administraba un bolo de 50 mg de propofol hasta conseguir el estado anestésico adecuado del animal. A lo largo del estudio los animales recibieron como fluidoterapia suero salino 0,9% ajustando la dosis entre 5-8 ml/kg/h.

- **Monitorización**

La monitorización anestésica de todos los animales consistió en la obtención del **electrocardiograma de superficie** utilizando el sistema de derivaciones bipolares con tres electrodos. Figura 15.

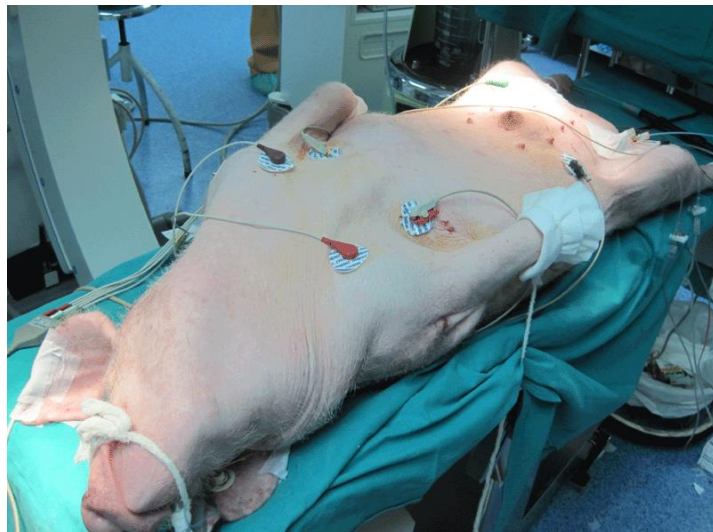


Figura 15. Ejemplo de monitorización mediante ECG.

Se completó la monitorización con la canalización de los vasos femorales con un catéter del calibre 5F para la arteria y del 7F-8F para la vena. La canalización se realizó por vía percutánea o mediante disección quirúrgica. Se realizó registro continuo de los valores de la presión arterial, y se obtuvieron muestras para conocer el estado de los gases sanguíneos e iones de los animales durante las diferentes fases del estudio. Figuras 16 y 17.



Figura 16. Ejemplo de canalización arterial, en este caso la arteria femoral derecha mediante disección quirúrgica, y la vena femoral izquierda.



Figura 17: Ejemplo de monitorización del ECG, presión arterial invasiva y CO2 espirado.

2.2.2.1.PROTOCOLO DE ESTUDIO DE LA DOSIS DE ATROPINA Y PROPRANOLOL QUE PRODUCE BLOQUEO AUTONÓMICO EN EL CERDO. ESTUDIO DE LA FRECUENCIA CARDIACA INTRÍNSECA

Para la obtención de la denervación autonómica del corazón en el cerdo se estudiaron 16 animales en los que se empleó el esquema de administración de los agentes bloqueantes, siguiendo el protocolo de bloqueo autonómico descrito por Jose AD y Taylor RR, 1969, realizado en el hombre como se especifica a continuación:

Para el bloqueo de los receptores muscarínicos se administró atropina en dosis de 0,01mg/kg intravenosa, repetidas a intervalos de 3 minutos hasta que no se observaba cambio en la frecuencia cardiaca. La atropina se preparaba diluyendo una ampolla de 1mg en 10 ml de suero salino, obteniéndose una dosis de 0,1 mg/ml. A continuación se procedía con el bloqueo de los receptores β -adrenérgicos, para ello se administró propranolol en dosis de 0,05 mg.kg⁻¹ intravenoso, repetidas a intervalos de 3 minutos hasta que no se observaba cambio en la frecuencia cardiaca. El propranolol se preparaba en jeringas con una dilución de 1mg/ml. Para ambos fármacos se administraron un máximo de 5 dosis siguiendo el esquema del protocolo descrito por Jose y Taylor. En un subgrupo de 5 animales se administraron hasta 6 dosis comprobándose que en ningún animal se producía cambio alguno en la frecuencia cardiaca corroborándose la adecuación del esquema de administración de 5 dosis. Figura 18.

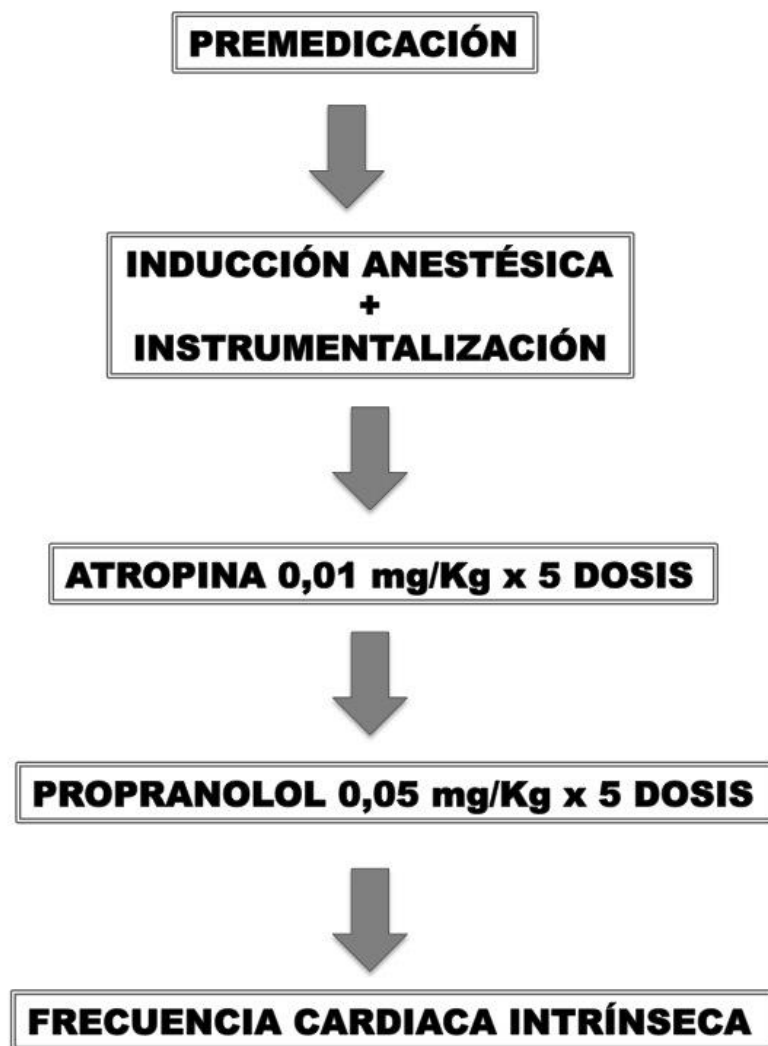


Figura 18. Diseño experimental del estudio de la frecuencia cardiaca intrínseca

La frecuencia cardiaca que se recogía era la obtenida en los últimos segundos de cada intervalo de 3 minutos. Para asegurar la fiabilidad del valor de la frecuencia cardiaca se corroboraba la medida obtenida en el monitor de ECG y la registrada en el monitor de pulsioximetría. En el monitor de pulsioximetría la frecuencia cardiaca se determina por pletismografía con una exactitud de ± 2

lpm y una resolución de 1 lpm. Se programó para que la media de los lpm registrados fuera cada 12 segundos.

Se definieron dos criterios de eficacia del bloqueo autonómico: uno clínico añadido a otro estadístico. Como criterio clínico consideramos que la dosis eficaz de atropina y propranolol sería aquella que no se acompañara de un cambio de ± 1 latido por minuto en la frecuencia cardiaca obtenida. Con el segundo criterio consideramos que la dosis eficaz de atropina y propranolol será aquella con la que no se obtuvieran cambios estadísticamente significativos de la frecuencia cardiaca. Por tanto la dosis eficaz para cada uno de los fármacos sería la que cumpliera con las dos condiciones.

2.2.2.2.PROTOCOLO DE ESTUDIO DE LA DURACIÓN DEL BLOQUEO AUTONÓMICO SIMPÁTICO EL CERDO

Para valorar la eficiencia del bloqueo β -adrenérgico, se estudió la respuesta a la administración de una dosis intravenosa de 0,4 $\mu\text{g/kg}$ de isoproterenol. El esquema de administración fue el que se describe a continuación:

Valoración de la respuesta al isoproterenol de forma basal: cuando finalizaba la instrumentalización del animal y tras un periodo de estabilización de 10 minutos se administraba una dosis de 0,4 $\mu\text{g/kg}$ de isoproterenol anotándose la máxima respuesta en la FC obtenida. Tras un periodo de recuperación de las condiciones basales del animal, alrededor de 15-20 minutos tras la prueba con el isoproterenol, se realizaba el bloqueo autonómico con las mencionadas dosis de atropina y propranolol hasta obtener la frecuencia cardiaca intrínseca. A continuación se repetía la dosis de isoproterenol y se anotaba la frecuencia cardiaca máxima.

A los 20 minutos del bloqueo se administraba nuevamente una dosis de 0.4 $\mu\text{g/kg}$ de isoproterenol y se anotaba la frecuencia cardiaca máxima.

Como quiera que en un análisis preliminar de los datos se observó un aumento de la respuesta de la frecuencia cardiaca al isoproterenol a los 20 minutos, en los siguientes animales se administró, la mitad de la dosis de propranolol, repitiéndose a continuación la valoración de la respuesta al isoproterenol.

Este mismo proceso se repitió en un subgrupo de animales a los 40 y a los 60 minutos. Figura 19.

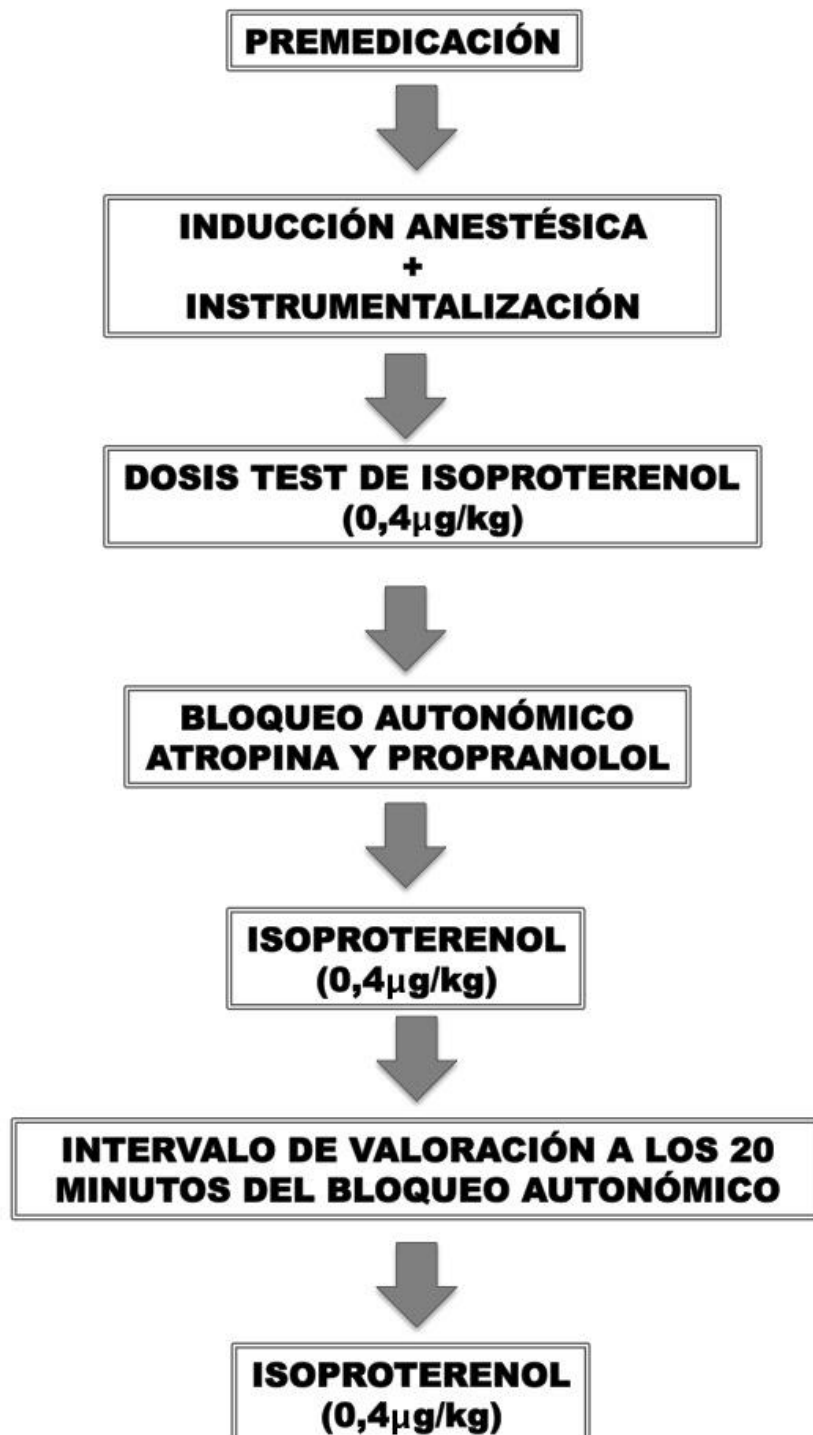


Figura 19. Diseño experimental del estudio de la duración del bloqueo simpático.

2.2.2.3.PROTOCOLO DE ESTUDIO DE LA DURACIÓN DEL BLOQUEO AUTONÓMICO PARASIMPÁTICO EL CERDO

Estudios previos que han analizado el bloqueo autonómico parasimpático en animales de experimentación, consideraban que un estímulo colinérgico intenso bien farmacológico o mediante estimulación eléctrica de los troncos vagales se asociaba con una pausa sinusal de 2-3 segundos. Por tanto si tras la administración de un agente parasimpaticomimético esta pausa no se reproducía podemos considerar que el bloqueo parasimpático es intenso y eficaz.

Para valorar la eficacia del bloqueo parasimpático, se estudió la respuesta a la administración de una dosis intravenosa de acetilcolina que produjera una pausa de 2-3 segundos.

La dosis de acetilcolina de inicio fue de 10 mg, si no se producía la pausa sinusal requerida, se esperaba un periodo de recuperación del animal de 10-15 minutos y se repetía la administración de acetilcolina duplicando la dosis hasta obtener la pausa sinusal determinada.

Tras un periodo de recuperación de las condiciones basales del animal, alrededor de 15-20 minutos, se realizaba el bloqueo autonómico con las mencionadas dosis de atropina y propranolol hasta obtener la frecuencia cardiaca intrínseca. A continuación se repetía la administración de la misma dosis de acetilcolina que en condiciones basales había producido la pausa sinusal requerida de 2-3 segundos, y se observaba el efecto en la frecuencia cardiaca y si se reproducía la pausa sinusal.

A los 20 minutos del bloqueo se administraba nuevamente la dosis de acetilcolina observándose su respuesta. Este mismo proceso se repitió en intervalos de 20 minutos hasta que el animal presentaba signos de recuperación de bloqueo parasimpático. Este se definió como la presencia tras la administración de acetilcolina de: una pausa sinusal inferior a 2 segundos, pero mayor de 1 segundo, o bien una pausa sinusal mayor de 2 segundos, similar a la obtenida de forma basal. Figura 20.

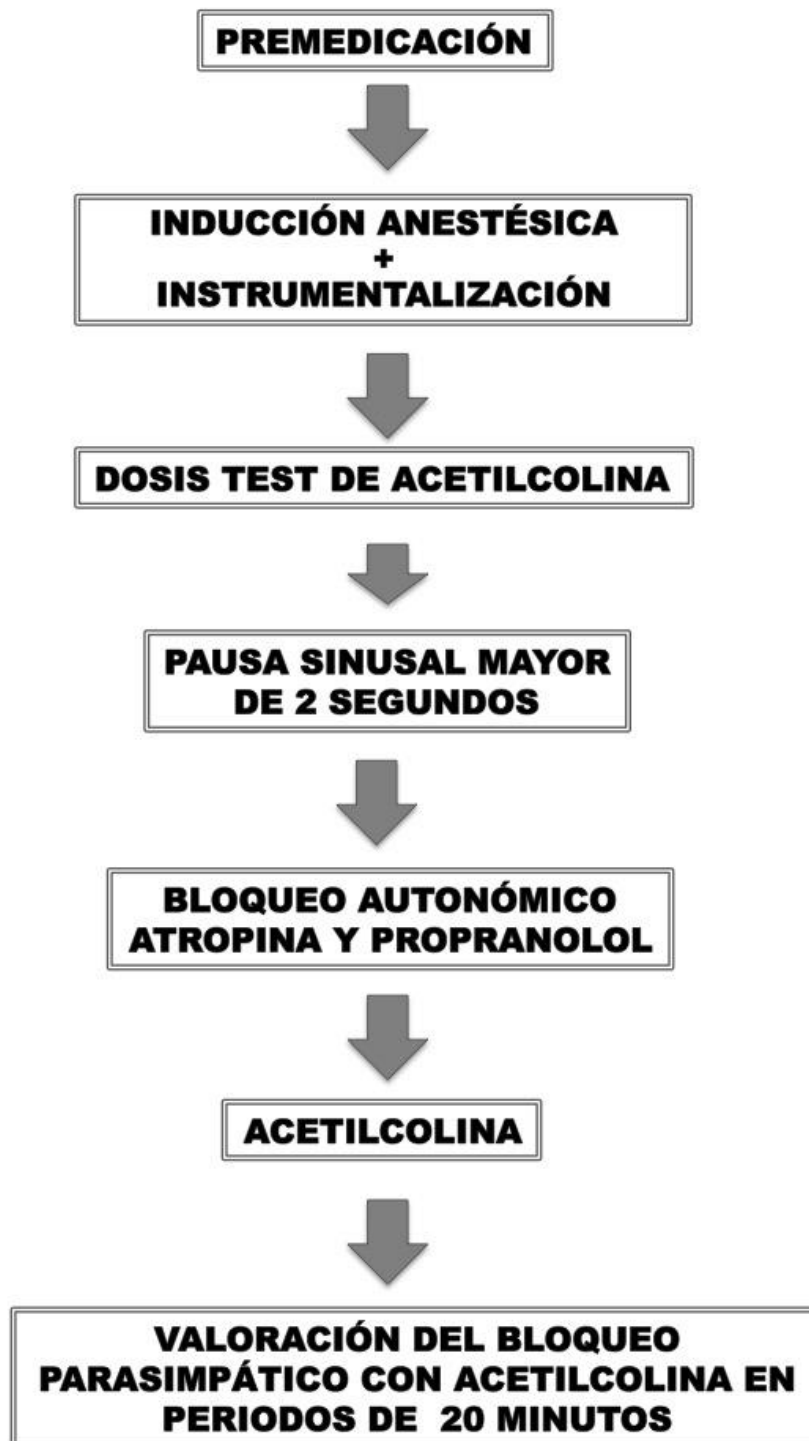


Figura 20. Diseño experimental del estudio de la duración del bloqueo parasimpático

SACRIFICIO

Al finalizar el procedimiento los animales fueron sacrificados con una dosis de 200 mg de propofol y a continuación se administró cloruro potásico 100 milimoles, con ello se producía a los segundos la parada cardíaca del animal. Tras el registro de la parada cardíaca en el monitor, se procedía a la desconexión del ventilador del animal y a su retirada de la mesa del animalario.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico fue realizado con el programa estadístico SPSS versión 20.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA). Los valores numéricos fueron expresados como media \pm desviación estándar. Se emplearon diferentes métodos estadísticos para la comparación de las diferentes variables.

Estudio de los datos generales del modelo experimental: análisis de los parámetros hemodinámicas, de los gases sanguíneos y de los iones durante el desarrollo del estudio: mediante el test no paramétrico de Friedman para medidas repetidas.

Las comparaciones de las frecuencias cardíacas obtenidas durante la realización del bloqueo autonómico se analizaron mediante el test no paramétrico de Wilcoxon para muestras relacionadas. Se hicieron comparaciones de la frecuencia cardíaca previa y la posterior a la administración de las dosis sucesivas de atropina y propranolol.

Para las comparaciones de los datos obtenidos durante el estudio de la duración del bloqueo autonómico simpático se hicieron comparaciones entre la frecuencia cardíaca obtenida antes y después de la administración de isoproterenol mediante el test no paramétrico de Wilcoxon para muestras relacionadas.

Para las comparaciones de los datos obtenidos durante el estudio de la duración del bloqueo autonómico parasimpático se determinó si el animal presentaba o no una pausa sinusal con la administración de acetilcolina, comparándose con la respuesta basal mediante la prueba de la Chi-cuadrado de Pearson y la prueba de exacta de Fisher cuando fue preciso.

Para las comparaciones realizadas entre los animales que presentaron signos de recuperación del bloqueo parasimpático se utilizó el test no paramétrico de Mann-Whitney para muestras independientes. Se consideró una diferencia estadísticamente significativa cuando el valor de p fue $< 0,05$.

De los valores de frecuencia cardíaca y de presión arterial sistólica, diastólica y media obtenidos de forma continua durante el estudio, se incluyeron para el análisis estadístico los registrados en periodos específicos de cada uno de los estudios: Basal, tras finalizar la instrumentalización, al finalizar la administración de atropina, y al finalizar la administración de propranolol coincidiendo con la obtención de la frecuencia cardíaca intrínseca. De la misma forma, y durante las mismas fases, se obtuvieron los valores analíticos de los gases sanguíneos obtenidos a partir de muestras de sangre arterial, sodio, potasio y calcio.

Las variables analizadas fueron:

I. Datos generales del estudio

- Peso de los animales
- Tiempo total del experimento
- Presión arterial sistólica, diastólica y media
- Frecuencia cardíaca
- Gases sanguíneos
- Iones
- Dosis de propofol

II. Datos del estudio de la dosis de atropina y propranolol que producía bloqueo autonómico en el cerdo

- Frecuencia cardíaca basal
- Frecuencia cardíaca tras la primera dosis de atropina
- Frecuencia cardíaca tras la segunda dosis de atropina
- Frecuencia cardíaca tras la tercera dosis de atropina
- Frecuencia cardíaca tras la cuarta dosis de atropina
- Frecuencia cardíaca tras la quinta dosis de atropina
- Frecuencia cardíaca tras la primera dosis de propranolol
- Frecuencia cardíaca tras la segunda dosis de propranolol

- Frecuencia cardiaca tras la tercera dosis de propranolol
- Frecuencia cardiaca tras la cuarta dosis de propranolol
- Frecuencia cardiaca tras la quinta dosis de propranolol
- Frecuencia cardiaca intrínseca

III. Datos del protocolo de estudio de la duración del bloqueo autonómico simpático en el cerdo

- Frecuencia cardiaca basal previa a la administración de isoproterenol
- Frecuencia cardiaca tras la administración de isoproterenol en situación basal
- Frecuencia cardiaca al finalizar el bloqueo autonómico o frecuencia cardiaca intrínseca.
- Frecuencia cardiaca tras la administración de isoproterenol tras la realización del bloqueo autonómico
- Frecuencia cardiaca a los 20 minutos del bloqueo autonómico previa a la administración de isoproterenol
- Frecuencia cardiaca a los 20 minutos del bloqueo autonómico tras la administración de isoproterenol
- Frecuencia cardiaca a los 20 minutos del bloqueo autonómico tras repetir la mitad de dosis de propranolol y previa a la administración de isoproterenol
- Frecuencia cardiaca a los 20 minutos del bloqueo autonómico tras repetir la mitad de dosis de propranolol y tras la administración de isoproterenol
- Frecuencia cardiaca a los 40 minutos del bloqueo autonómico previa a la administración de isoproterenol
- Frecuencia cardiaca a los 40 minutos del bloqueo autonómico tras la administración de isoproterenol
- Frecuencia cardiaca a los 40 minutos del bloqueo autonómico tras repetir la mitad de dosis de propranolol y previa a la administración de isoproterenol

- Frecuencia cardiaca a los 40 minutos del bloqueo autonómico tras repetir la mitad de dosis de propranolol y tras la administración de isoproterenol
- Frecuencia cardiaca a los 60 minutos del bloqueo autonómico previa a la administración de isoproterenol
- Frecuencia cardiaca a los 60 minutos del bloqueo autonómico tras la administración de isoproterenol
- Frecuencia cardiaca a los 60 minutos del bloqueo autonómico tras repetir la mitad de dosis de propranolol y previa a la administración de isoproterenol
- Frecuencia cardiaca a los 60 minutos del bloqueo autonómico tras repetir la mitad de dosis de propranolol y tras la administración de isoproterenol

IV. Datos del protocolo de estudio de la duración del bloqueo autonómico simpático en el cerdo

- Frecuencia cardiaca basal previa a la administración de acetilcolina
- Dosis de acetilcolina que produjo pausa sinusal mayor de 2 segundos
- Recuperación del bloqueo parasimpático. Valoraciones hechas cada 20 minutos tras la realización del bloqueo autonómico.
- Duración del bloqueo parasimpático

2.3. PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DEL REMIFENTANILO EN LA ELECTROFISIOLOGÍA CARDIACA EN CONDICIONES DE BLOQUEO AUTONÓMICO

2.3.1 MATERIAL

ANIMALES

El estudio se realizó en 9 cerdos de la raza Mini Pig. Las condiciones de cuidados y traslado de los animales fueron idénticas a las mencionadas en el protocolo previo.

MATERIAL ANESTÉSICO

El material anestésico utilizado para la realización del estudio, fue el que se describe a continuación:

- Tubo oro-traqueal de los números 4,5-6,5. Mallinckrodt.
- Catéteres endovenosos Jelco de calibre 20G para vías periféricas. Ethicon Endo-Surgery. Johnson-Johnson Company.
- Catéteres endovenosos Introcan Safety. Braun.
- Sistemas de infusión intravenosa por gravedad con toma de aire antibacteriana. Estéril, apirógeno y de un solo uso: Intrafix Air de BRAUM.
- Bombas de infusión IVAC 560. IVAC Medical Systems.
- Bombas de infusión continua Alaris 7231. Carefusion. UK.
- Catéteres para canalización arterial. 6 F (2 mm), 11 cm. Super Sheath. Boston Scientific. Medikit. Japon.
- Catéter venoso. 7 F (2,3 mm) Supersheat. Boston Scientific. Medikit. Japon.
- Sistemas arteriales de transductor único. Edwards Lifesciences.
- Monitor de ECG, pulsioximetría y de presión arterial invasiva. Kolormon mc. Kontron instruments. LTD. Inglaterra.
- Monitor de ECG, pulsioximetría y de presión arterial invasiva. Vision. IRGB. Medical devices. España.
- Monitor Life Scope G. Nihon Kohden

- Capnógrafo Ohmeda 5250 RGM. USA.
- Electrocardiógrafo ECG Lab 3.0. TECNOMED 2000 S.L. MADRID
- Monitor de profundidad anestésica: Monitor Índice Biespectral. (BIS VISTA, Módulo A 2000. Monitoring System, ASPECT Medical Systems.
- Respirador Drager SA. España. Dräger Medical Hispania S.A., España
- Vaporizador Sevoflurano. Abbott.
- Autoanalizador de gases. Instrumentation Laboratory. Modelo 1306 para la determinación de pH, Gases Sanguíneos y Electrolitos.
- Autoanalizador de gases GEM. Premier 3000. Modelo 5700. Instrumentation Laboratory.
- Sonda de ecográfica y Ecógrafo: Vivid S5- GE Healthcare

Fármacos anestésicos:

- Propofol al 1% (Diprivan); 2,6 diisopropilfenol; peso molecular 178,3), emulsión estéril, no pirógena que contiene 10 mg/ml de propofol vehiculizado en una emulsión grasa al 10%, del laboratorio AstraZeneca.
- Remifentanilo (Ultiva); remifentanilo base en forma de hidrocloreto; excipientes: glicina, ácido clorhídrico e hidróxido de sodio. Laboratorio GlaxoSmithKline.
- Sevoflurano (fluorometil 2,2,2-trifluoro-1 [trifluorometil]etil éter). (Sevorane solución 100%); Abbott Laboratories.

MATERIAL PARA EL ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO

- Catéteres para la canalización de vena femoral: introductor 7F. Medikit Super Sheath Set. Medikit CO. LTD. Tokio. Japón
- Electrocatéteres para estimulación y registro. Catéter tetrapolar Bard, y Marinr, Medtronic. Catéter cuádrupolar tipo Josephson de Medtronic.
- Estimulador cardíaco tricameral CS3 Cardio-Stim (Figura 21).
- Polígrafo: LABSYSTEM, polígrafo LABSYSTEM PRO 40 canales. (BARD® LS8900 Workstation) para registrar la información

electrofisiológica provisto de filtros genéricos y compatible con diversos sistemas de navegación.

- Equipo de Rayos X portátil para visión fluoroscópica. Siemens Siremobil Compact L con monitor.



Figura 21 . Estimulador cardiaco.

2.3.2 MÉTODO

DISEÑO EXPERIMENTAL

El modelo experimental se realizó en cerdos de la raza Mini Pig mediante anestesia general con intubación orotraqueal y con el tórax cerrado. Los animales fueron premedicados de forma previa a la inducción de la anestesia general y de la intubación orotraqueal. Los animales recibieron propofol en la inducción anestésica y el mantenimiento anestésico se llevó a cabo con sevoflurano.

Al finalizar la instrumentalización se procedió a la realización del bloqueo autonómico con las dosis obtenidas en el protocolo previo (0,04 mg/kg de atropina y 0,25 mg/kg de propranolol; repitiéndose la mitad de la dosis de propranolol en intervalos de 20 minutos y de atropina cada 105 minutos). Tras la finalización del bloqueo autonómico se realizó un estudio electrofisiológico denominándose estudio electrofisiológico basal. A continuación se procedió a administrar remifentanilo mediante una dosis en bolo, manteniéndose posteriormente una perfusión continua, realizándose un nuevo estudio electrofisiológico, idéntico al efectuado previamente que se denominó: estudio electrofisiológico remifentanilo.

DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO

Todos los animales fueron premedicados con ketamina de forma previa a su traslado a quirófano. Una vez en el quirófano se canalizó una vena periférica del pabellón auricular y se realizó la inducción anestésica con propofol. Seguidamente se realizó la intubación orotraqueal del animal cuando este alcanzaba un nivel de hipnosis adecuado, no se utilizó ningún tipo de relajante neuromuscular. Este manejo anestésico fue común para los 9 cerdos que se sometieron al experimento. El mantenimiento anestésico se realizó con sevoflurano a 1 MAC (concentración de 2,6%)

A continuación se procedió a la canalización percutánea, disección quirúrgica de la vena femoral, o canalización ecoguiada dependiendo de las características y dificultades anatómicas del animal, avanzándose los catéteres por una o por ambas venas femorales bajo control fluoroscópico. La ubicación de los catéteres se realizó en diferentes localizaciones anatómicas intracavitarias: en la aurícula derecha, en la unión aurículo-ventricular derecha a nivel de la zona donde se registra la activación del haz de His y en el ventrículo derecho.

Seguidamente se realizó el bloqueo autonómico administrándose como se ha referido previamente 0,04 mg/kg de atropina y 0,25 mg/kg de propranolol. Tras el bloqueo autonómico se llevó a cabo el primer protocolo de estudio electrofisiológico (protocolo basal). Una vez finalizado dicho estudio basal, se inició la administración de remifentanilo en dosis de 1 µg/kg en bolo y posteriormente una perfusión en dosis de 0,5 µg/kg/min. Transcurridos diez

minutos del inicio de la infusión de remifentanilo, se realizaba un segundo estudio electrofisiológico (protocolo remifentanilo) idéntico al previo.

PROTOCOLO ANESTÉSICO

Premedicación

Unos minutos antes del comienzo del estudio, todos los animales fueron premedicados con Ketamina intramuscular en dosis de 20 mg/kg (Boschert K et al.,1996). Cuando el animal presentaba signos de adecuada sedación como son: permanecer sin agitarse en la jaula, no ser capaz de levantarse y no pretender la huida ante la presencia del personal del animalario, se procedía a su traslado al quirófano.

Inducción y mantenimiento anestésico

Una vez que el animal era trasladado al quirófano y colocado sobre la mesa quirúrgica, se canalizaba un acceso venoso con una cánula del calibre 20 G en el dorso del pabellón auricular y se procedía a su preoxigenación con oxígeno al 100% a través de una mascarilla facial. A continuación se realizaba la inducción anestésica con propofol a dosis de 4,5 mg/kg seguido de la intubación endotraqueal con un tubo orotraqueal del nº 5-6 dependiendo del peso del animal. En ningún momento del estudio se utilizaron relajantes neuromuscular para evitar los posibles efectos en la conducción cardiaca de estos fármacos que pudiesen actuar como factores de confusión.

La ventilación mecánica se instauró con una mezcla de oxígeno/Aire al 100% y un flujo de gas fresco de 6 l/min, con un volumen tidal adaptado para mantener normocapnia.

A lo largo del estudio los animales recibieron como fluidoterapia suero salino al 0,9% con una dosis total de 8 ml/kg/h.

Una vez realizada la inducción con propofol el mantenimiento anestésico se llevó a cabo con sevoflurano a 1 MAC: 2.66%. (Holmstrom A y Akesson J, 2003). Tras realizar el estudio electrofisiológico basal se administró la misma dosis de remifentanilo descrita previamente primero en bolo seguida de la perfusión continua ya mencionada. Figura 22.

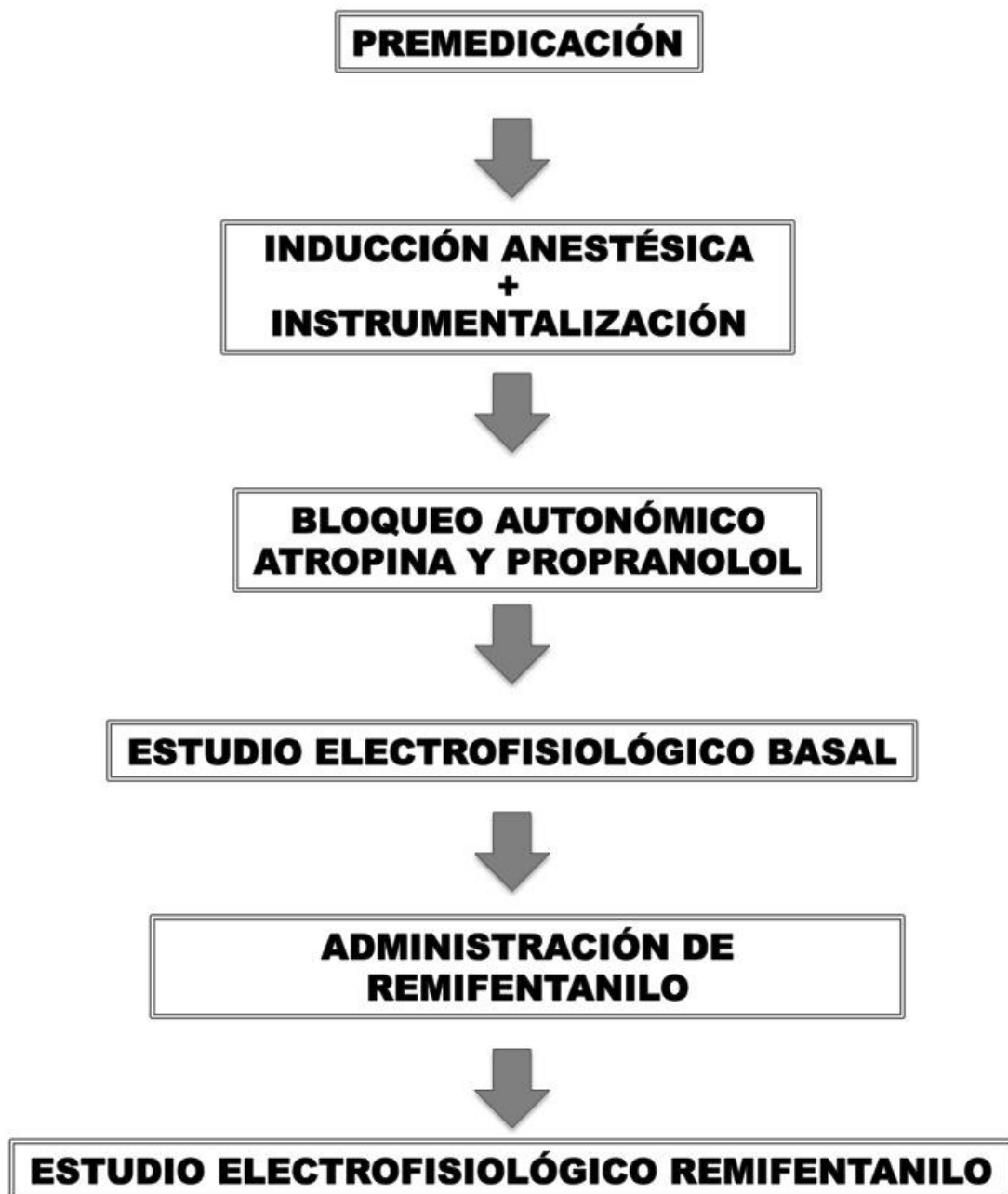


Figura 22. Diseño experimental del estudio electrofisiológico del remifentanilo en condiciones de bloqueo autonómico.

Monitorización

Durante la anestesia se monitorizó en todos los animales el electrocardiograma de superficie utilizando el sistema de derivaciones bipolares con tres electrodos. Así mismo se realizó control de la presión arterial de forma invasiva, previa canalización de la arteria femoral. A través de la misma se realizaron muestras de gasometría e iones durante las diferentes fases del estudio. Se utilizó monitorización de la profundidad anestésica mediante el monitor BIS.

Durante el estudio se registraron los datos hemodinámicos de forma continua, utilizándose para el análisis estadístico los obtenidos tras la realización del estudio electrofisiológico basal y tras el estudio electrofisiológico con remifentanilo. En estos mismos momentos se extrajeron analíticas para el control gasométrico y de iones que también se analizaron estadísticamente.

2.4. GRUPO CONTROL: ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO EN CONDICIONES DE BLOQUEO AUTONÓMICO SIN REMIFENTANILO

Para evaluar el posible impacto del tiempo de duración del estudio en los parámetros electrofisiológicos se realizó un grupo control en el que se sustituyó la administración de remifentanilo por salino. Ambos estudios se realizaron en situación de bloqueo autonómico y el anestésico de mantenimiento fue el sevoflurano. Todo el procedimiento fue similar al descrito previamente para el protocolo de estudio de remifentanilo. Figura 23

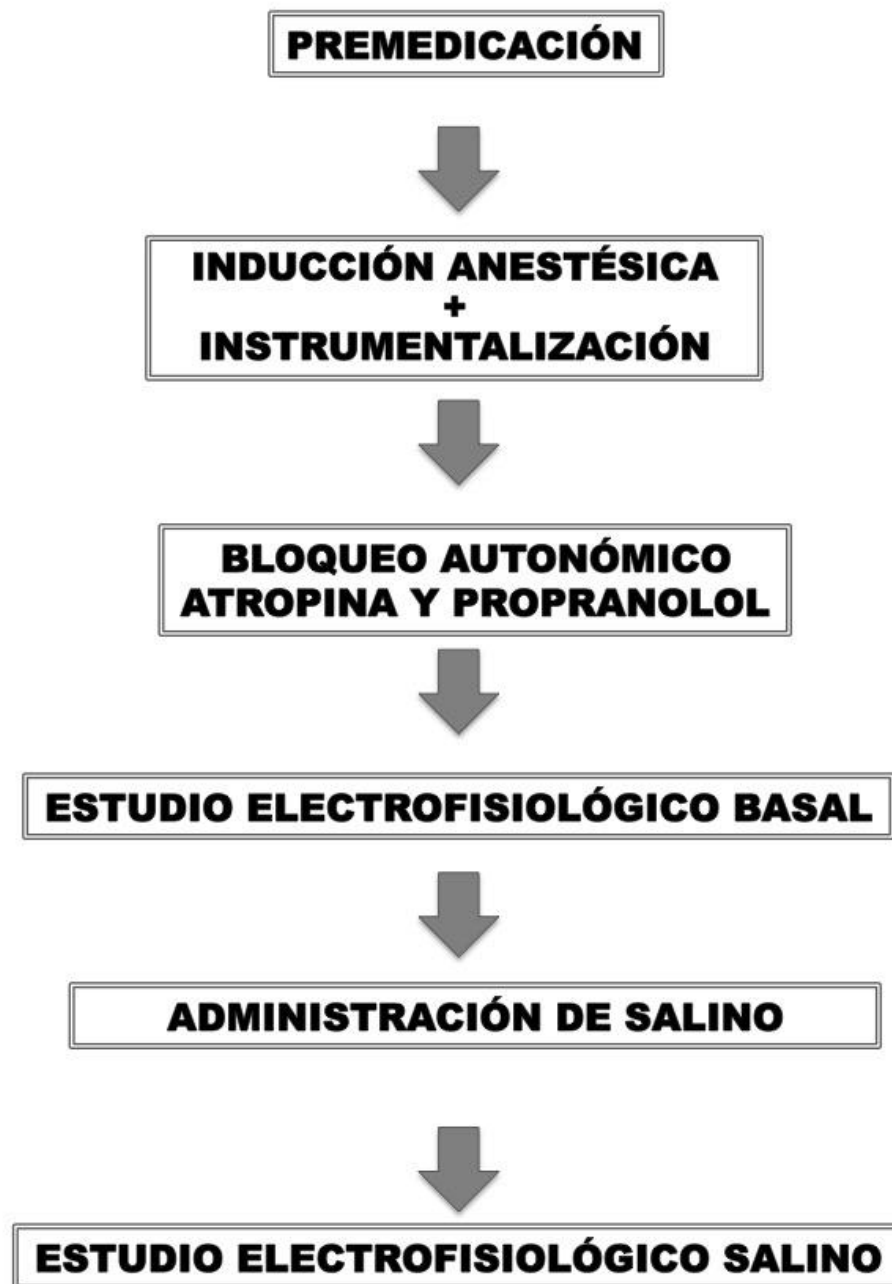


Figura 23. Diseño experimental del estudio electrofisiológico del grupo control en condiciones de bloqueo autonómico.

SACRIFICIO

Al finalizar el procedimiento los animales fueron sacrificados con una dosis de 200 mg de propofol y a continuación se administró cloruro potásico 100 milimoles, con ello se producía a los segundos la parada cardíaca del animal. Tras el registro de la parada cardíaca en el monitor, se procedía a la desconexión del ventilador del animal y a su retirada de la mesa del animalario.

2.5. DESCRIPCIÓN DE LOS PROTOCOLOS DE ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO

Instrumentación

Se utilizaron dos o tres catéteres cuadripolares (Catéter tetrapolar Bard® y Medtronic®) para la estimulación intracardiaca. Los filtros que se utilizaron se encontraban entre 70 y 500 Hz. Los catéteres se avanzaron guiados con control fluoroscópico hasta lograr su correcta colocación en la parte alta de la aurícula derecha y en la unión aurículo-ventricular derecha a nivel de la zona donde se registra la activación del haz de His. Cuando se utilizaron tres catéteres uno de ellos se colocó en el ápex del ventrículo derecho. Cuando se utilizaron sólo dos catéteres, el inicialmente colocado en aurícula derecha alta, se avanzaba hasta el ápex del ventrículo derecho para realizar la estimulación ventricular

Protocolo de estudio electrofisiológico

El estudio electrofisiológico consistió en la determinación de los parámetros que valoran tanto la función del nodo sinusal como la función del nodo AV, del sistema His-Purkinje y algunos parámetros electrofisiológicos de la aurícula y del ventrículo.

En primer lugar se obtuvo un registro continuo que sirvió, para medir el ciclo sinusal basal, así como los intervalos AH y HV durante el ritmo sinusal. Antes de iniciar la estimulación a nivel auricular se determinó el umbral de estimulación auricular, y previamente al inicio de la estimulación ventricular se constató el valor del umbral ventricular. La estimulación eléctrica se realizó con impulsos cuadrangulares, de una amplitud cinco veces al umbral diastólico previamente determinado.

Se introdujeron trenes de impulsos auriculares a múltiples ciclos de estimulación, desde ciclos próximos al sinusal, hasta ciclos de 300 ms o aquellos necesarios para identificar el punto de Wenckebach. Se realizó la técnica de extraestímulo auricular, con extraestímulos únicos con acoplamiento descendente de 10 en 10 ms hasta alcanzar la refractariedad auricular, siempre precedidos de un tren de ocho impulsos auriculares con ciclos de 600 y 400 ms. Se realizó la técnica del extraestímulo ventricular, a nivel del ápex de ventrículo derecho, con extraestímulos únicos con acoplamiento descendente de 10 en 10 ms hasta alcanzar la refractariedad ventricular, siempre precedidos de un tren de ocho impulsos ventriculares con ciclos de 600 y 400 ms.

Estudio electrofisiológico basal tras inducir el bloqueo autonómico sin remifentanilo

En todos los animales se llevo a cabo un estudio electrofisiológico en condiciones basales una vez realizado el bloqueo autonómico

Estudio electrofisiológico con remifentanilo y bloqueo autonómico

Al finalizar el estudio electrofisiológico basal se administró remifentanilo tal y como se ha descrito previamente. Transcurridos unos 10 minutos del inicio de la perfusión, y obtenido el registro del ciclo sinusal basal así como el valor del umbral de estimulación, se procedió a la realización de un segundo estudio electrofisiológico midiendo los mismos parámetros.

2.6 DESCRIPCIÓN DE LOS PARÁMETROS Y MEDIDAS ELECTROFISIOLÓGICAS

PARÁMETROS

Para el desarrollo de esta investigación se analizaron los siguientes parámetros de estudio de la fisiología eléctrica de las diferentes estructuras cardiacas.

Valoración de la función sinusal:

- Longitud del ciclo sinusal (LCS)
- Estudio del tiempo de recuperación del nodo sinusal (TRNS) y del TRNS corregido (TRNSC).
- Estudio de la conducción sinoauricular medido mediante el tiempo de conducción sinoauricular (TCSA).

Valoración de la función del nodo AV:

- Medición del intervalo AH.
- Estudio de la refractariedad del nodo AV mediante la determinación del periodo refractario efectivo del nodo AV (PRENAV).
- Punto de Wenckebach nodal. (PW)

Valoración de la función del sistema His-Purkinje:

- Medida del intervalo HV.

Valoración de la función eléctrica auricular y ventricular:

- Medida de periodo refractario efectivo de la aurícula derecha (PREAD).
- Medida del periodo refractario efectivo de ventrículo derecho (PREVD).

MEDIDAS

Los valores de los distintos parámetros electrofisiológicos se obtuvieron como se refleja a continuación:

TIEMPO DE RECUPERACIÓN DEL NODO SINUSAL

Se define como el tiempo requerido para que retorne la actividad espontánea del nodo sinusal después de una estimulación auricular rápida de medio minuto de duración. Se midió utilizando diferentes ciclos de estimulación decreciente de 600, 500, 400, 350 y 300 ms. La duración de la estimulación auricular en cada uno de los ciclos fue de 30 segundos, y fue seguida por otro periodo de 30 segundos de reposo, sin estimular para facilitar la recuperación del nodo sinusal. El intervalo entre el último latido auricular estimulado y el primer latido sinusal espontáneo tras el cese de la estimulación en milisegundos se consideró como el TRNS. Figura 4.

TIEMPO DE RECUPERACIÓN CORREGIDO DEL NODO SINUSAL

Se calculó obteniendo la diferencia entre el TRNS y el ciclo sinusal basal previo a cada ciclo de estimulación: TRNS-CS

TIEMPO DE CONDUCCIÓN SINOAURICULAR

Es el tiempo que necesita el impulso desde el nodo sinusal en alcanzar el tejido auricular adyacente. Se calculó utilizando el **Test de Narula** o prueba de

estimulación auricular continua lenta. Se efectúa mediante trenes cortos de ocho estímulos a una frecuencia de estimulación ligeramente superior a la frecuencia sinusal. El fin de la secuencia de estimulación auricular, da lugar a un ciclo auricular que va a representar el tiempo de conducción de entrada y salida del nodo sinusal más la longitud del ciclo sinusal normal. El valor del TCSA se obtuvo por tanto, restando a la medida del ciclo sinusal postestimulación el ciclo sinusal basal y dividiendo esta diferencia entre dos. La medida se realizó tres veces para luego obtener la media de todas las mediciones. Figura 5.

PUNTO DE WENCKEBACH

Es la frecuencia de estimulación auricular continua más lenta a la que la conducción AV deja de ser 1:1. Para medirlo, se utilizaron frecuencias de estimulación auricular progresivamente decrecientes. De esta manera, se consideró como PW cuando se alcanzó la frecuencia crítica en la que apareció un bloqueo AV de segundo grado. Figura 11.

INTERVALO AH

Es el tiempo de conducción nodal. Se midió en los registros espontáneos, es decir, sin estimulación, desde el comienzo de la deflexión del electrograma auricular a nivel hisiano, al comienzo de la deflexión hisiana en el electrograma del His. Su valor expresa el tiempo que precisa el impulso desde la porción inferior de la aurícula derecha, a nivel del tabique interventricular, hasta alcanzar el haz de His. Figura 7.

INTERVALO HV

Es el tiempo de conducción desde el tronco del haz de His al miocardio ventricular y se midió desde el comienzo de la deflexión hisiana hasta el comienzo del ventriculograma, en el electrograma del His o en el QRS de superficie si este fuera más precoz. Figura 7.

PERIODOS REFRACTARIOS EFECTIVOS

Los periodos refractarios efectivos de la aurícula, ventrículo y nodo AV, se obtuvieron aplicando trenes de 8 estímulos a los que se acoplaron extraestímulos de prematuridad decreciente, hasta alcanzar el periodo en el que dicho extraestímulo no era propagado a los tejidos. La medida del **PREAD**

y del **PREVD** se llevó a cabo en cada lugar de estimulación es decir, en aurícula y en ventrículo respectivamente, y el **PRENAV** en el electrograma del His. El proceso se realizó con ciclos de estimulación largo, que en nuestro protocolo son a 600 ms, y corto a 400 ms. Figuras 8,9 y10.

2.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO MUESTRAL

El análisis estadístico fue realizado con el programa estadístico SPSS versión 20.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA).

Los datos se expresan como media \pm desviación estándar. Se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para comprobar la distribución normal de las variables. Para las variables paramétricas que cumplieron la hipótesis de la normalidad se empleo la test de Student para muestras relacionadas y para los que no presentaron distribución normal se empleó el test de Wilcoxon. Los valores de los parámetros hemodinámicos y analíticos fueron comparados al finalizar el estudios electrofisiológico basal y tras la administración de remifentanilo con el test no paramétrico de Wilcoxon para muestras relacionadas.

Las comparaciones entre los parámetros electrofisiológicos en los dos periodos de estudio antes y después de la administración de remifentanilo se realizó con el test no paramétrico de Wilcoxon para muestras relacionadas.

Se determinó la modificación porcentual o incremento Δ de los diferentes parámetros electrofisiológicos con la administración de remifentanilo.

Como quiera que este estudio se planteó a la vista de los resultados previos obtenidos por nuestro grupo de investigación, que evaluó los efectos del remifentanilo en condiciones anestésicas habituales sin bloqueo autonómico, se realizaron comparaciones entre los incrementos porcentuales producidos con el remifentanilo en situación con o sin bloqueo autonómico. Las comparaciones de estos cambios fueron analizadas mediante el test no paramétrico de Mann-Whitney para muestras independientes.

Se consideró una diferencia estadísticamente significativa un valor de la $P < 0,05$ con un test de bilateralidad.

Tamaño muestral

Para la determinación del tamaño muestral, un estudio previo realizado también en cerdos (Narciso B et al., 2014) mostró que el remifentanilo produjo un aumento del 45% en el TCSA. Aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.2 en un contraste bilateral, se precisaban **8** animales para detectar una diferencia igual o superior a un 30% de aumento en la duración del TCSA. Se asumió una desviación estándar de 11,4 ms. Se incluyeron 9 animales por posibles pérdidas de seguimiento.

RESULTADOS

ÍNDICE DE RESULTADOS

3.1. RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO DEL BLOQUEO AUTONÓMICO EN EL CERDO

3.1.1. RESULTADOS ANESTÉSICOS

3.1.2. RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE BÚSQUEDA DE LA DOSIS DE ATROPINA Y PROPRANOLOL Y BLOQUEO AUTONÓMICO EN EL CERDO: DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA CARDIACA INTRÍNSECA

3.1.3. RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO DE LA DURACIÓN DEL BLOQUEO AUTONÓMICO SIMPÁTICO EN EL CERDO

3.1.4. RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO DE LA DURACIÓN DEL BLOQUEO AUTONÓMICO PARASIMPÁTICO EN EL CERDO

3.1.5. TABLAS INDIVIDUALIZADAS DE LOS PROTOCOLO DE ESTUDIO DEL BLOQUEO AUTONÓMICO EN EL CERDO

3.2. RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO DEL REMIFENTANILO EN CONDICIONES DE BLOQUEO AUTONÓMICO

3.2.1 RESULTADOS ANESTÉSICOS

3.2.2. RESULTADOS ELECTROFISIOLÓGICOS

3.3. RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO EN EL GRUPO CONTROL: BLOQUEO AUTONÓMICO SIN REMIFENTANILO

3. 1. 1. RESULTADOS ANESTÉSICOS EN LOS ANIMALES DE ESTUDIO DEL BLOQUEO AUTONÓMICO

El estudio pudo completarse en 16 animales. En la Tabla se pueden observar los resultados de los datos generales del procedimiento. El peso medio de los animales fue de $36,7 \pm 8,6$ kg, siendo necesaria una dosis media de $5,7 \pm 1$ mg/kg de propofol para conseguir la inducción anestésica y facilitar la intubación endotraqueal.

Para el mantenimiento anestésico la dosis media requerida de propofol fue de 13 -15 mg/ kg/h.

La duración del estudio desde el comienzo de la inducción anestésica hasta la finalización de los protocolos fue de $141,3 \pm 44,2$ min.

Tabla 5. Datos generales del estudio. N=16

Variable	Resultado
Peso (kg)	$36,7 \pm 8,6$
Dosis media de ketamina (mg.kg)	20 mg
Dosis media de propofol en la inducción (mg.kg ⁻¹)	$5,7 \pm 1$
Tiempo de duración de la instrumentalización (min)	$45,3 \pm 24,8$
Duración del estudio del bloqueo autonómico (min)	$31,2 \pm 4,5$
Duración total del procedimiento (min)	$141,3 \pm 44,2$

Desde el punto de vista hemodinámico los animales se mantuvieron estables durante todas las fases del estudio.

(Figura) Variables hemodinámicas a lo largo del estudio

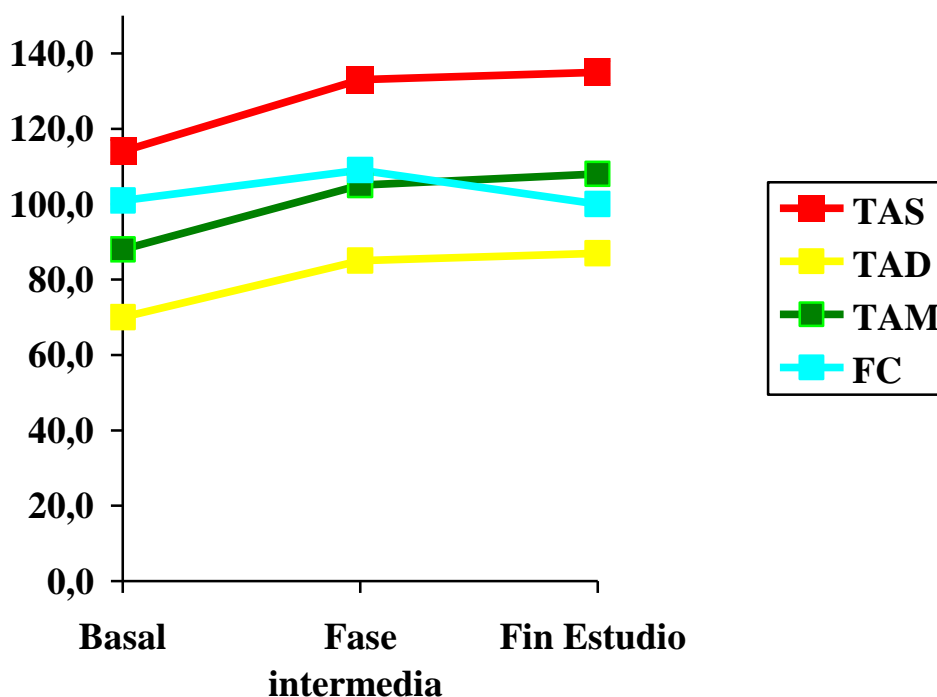


Figura 24: TAS: tensión arterial sistólica, TAD: tensión arterial diastólica, TAM: tensión arterial, FC: frecuencia cardiaca.

Los datos hemodinámicos se pueden observar en la Tabla. Se realizaron comparaciones entre los valores obtenidos al finalizar la instrumentalización del animal (situación basal), durante una fase intermedia del estudio y cuando este finalizó. El objetivo de este análisis fue comprobar si los animales se mantenían estables y en condiciones fisiológicas hasta el final del experimento. Se aprecia un aumento significativo en la **tensión arterial sistólica** (TAS), **diastólica** (TAD) y **media** (TAM) a lo largo del estudio en comparación con los valores basales. La frecuencia cardiaca si bien se modificó a lo largo del estudio, no alcanzó significación estadística. La diferencia observada en las presiones arteriales desde la situación basal, tras finalizar la inducción anestésica, con las fases posteriores del estudio, probablemente se debió al efecto depresor inicial de los fármacos aplicados durante la inducción anestésica.

Tabla 6. Parámetros hemodinámicos durante el protocolo de bloqueo autonómico. N=16

	Basal	Fase Intermedia	Fin del estudio	P
FC	101±31	109±19	100±16	0,07
PAS	114±28	133±21	135±22	<0,0001*
PAD	70±19	85±16	87±20	0,001*
PAM	88±22	105±20	108±22	0,002*

FC: frecuencia cardiaca; PAS: Presión arterial sistólica; PAD: Presión arterial diastólica; PAM: Presión arterial media. *Diferencia significativa entre la comparación de los valores basales con los valores obtenidos durante las otras fases del estudio.

No hubo diferencias estadísticamente significativas en los parámetros gasométricos a lo largo del estudio, manteniéndose en rango fisiológico. (Tabla 7) En relación a los iones observamos una diferencia significativa en los valores del potasio, desde cifras basales de 3,2 hasta 3,52 mmol/L al final del procedimiento. En ambos casos las cifras de potasio estaban en el rango inferior fisiológico siendo además las cifras en las fases más avanzadas del experimento más próximas al rango normal.

Tabla 7. Valores medios de las gasometrías arteriales e iones durante el protocolo de bloqueo autonómico: N=16

	Basal	Durante la realización del bloqueo autonómico	Fin del estudio	P
Na⁺ (mmol.l⁻¹)	138±2	137±3	137±2	0,323
K⁺ (mmol.l⁻¹)	3,2±0,3	3,4±0,3	3,5±0,3	0,006
Ca⁺⁺ (mmol.l⁻¹)	1,3±0,1	1,3±0,1	1,3±0,1	0,156
Ph	7,50±0,06	7,47±0,05	7,47±0,06	0,052
PaO₂(mmHg)	471±115	489±73	481±102	0,876
PaCO₂(mmHg)	37±5	40±4	40±5	0,081
HCO₃⁻(mmol.l⁻¹)	28,7±2,1	29,2±2,3	26,9±7,4	0,673
EB (mmol.l⁻¹)	4,9±2,9	5±2,6	3,04±2,5	1
SaO₂ (%)	100±0,9	99,9±0,5	100	1
Hematocrito (%)	29,4±2,8	26,1±3,7	25,2±2,5	0,078

Los datos reflejados representan la media ± desviación estándar, medidos en situación basal, durante la realización del bloqueo autonómico y al final del estudio. N=16

3.1.2 RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE BÚSQUEDA DE LA DOSIS DE ATROPINA Y PROPRANOLOL Y BLOQUEO AUTONÓMICO EN EL CERDO: DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA CARDIACA INTRÍNSECA

En la tabla 8 se reflejan las cifras de la FC obtenidas tras la administración de las dosis sucesivas de atropina y propranolol.

Tabla 8. Valores de la frecuencia cardiaca con la administración de dosis fraccionadas de 0,01 mg de atropina y de 0,05 mg de propranolol. Comparaciones realizadas entre los valores anteriores y posteriores a la administración de una nueva dosis. N=16

	Frecuencia cardiaca en lpm	P
FC basal	96,68±18,16	0,004
FC 1ª dosis de atropina	103,68±16,82	
FC 1ª dosis de atropina	103,68±16,82	0,036
FC 2ª dosis de atropina	106,25±17,55	
FC 2ª dosis de atropina	106,25±17,55	0,345
FC 3ª dosis de atropina	107,50±18,92	
FC 3ª dosis de atropina	107,50±18,92	0,633
FC 4ª dosis de atropina	107,75±19,19	
FC 4ª dosis de atropina	107,75±19,19	0,572
FC 5ª dosis de atropina	108,06±18,96	
FC 5ª dosis de atropina	108,06±18,96	0,001
FC 1ª dosis de propranolol	103,12±16,98	
FC 1ª dosis de propranolol	103,12±16,98	0,030
FC 2ª dosis de propranolol	100,56±17,39	
FC 2ª dosis de propranolol	100,56±17,39	0,039
FC 3ª dosis de propranolol	99,06±17,47	
FC 3ª dosis de propranolol	99,06±17,47	0,006
FC 4ª dosis de propranolol	97,75±17,25	
FC 4ª dosis de propranolol	97,75±17,25	0,680
FC 5ª dosis de propranolol	97,56±17,09	

FC: frecuencia cardiaca

La frecuencia basal media antes del bloqueo fue de 96,68±18 y la **frecuencia cardiaca intrínseca** obtenida fue de 97,56 ± 17.

En la tabla 9 se reflejan los cambios absolutos de la frecuencia cardiaca en latidos por minuto (lpm) con las sucesivas dosis de los fármacos administrados.

Tabla 9. Media y desviación estándar de la diferencia en latidos por minuto (lpm) entre la frecuencia cardiaca antes y después de las dosis sucesivas de atropina y propranolol. N=16

	Media	Desviación Estándar
Basal y 1ª dosis de atropina	6,87	8,60
1ª y 2ª dosis de atropina	2,68	4,23
2ª y 3ª dosis de atropina	1,25	5,69
3ª y 4ª dosis de atropina	0,250	2,11
4ª y 5ª dosis de atropina	0,312	2,41
5ª y 1ª dosis de propranolol	4,93	4,07
1ª y 2ª dosis de propranolol	2,37	4,75
2ª y 3ª dosis de propranolol	1,68	2,84
3ª y 4ª dosis de propranolol	1,312	1,57
4ª y 5ª dosis de propranolol	0,18	1,22

En negrita se muestran los valores medios que cumplen la condición clínica de bloqueo autonómico: cambio menor de 1 latido por minuto tanto para atropina (4ª dosis) como para propranolol (5ª dosis).

El análisis de los resultados obtenidos muestra que la dosis que cumple tanto los objetivos clínicos (modificación de la FC de ± 1 lpm) además de la ausencia de significación estadística, es la 4ª dosis de atropina de 0,01 mg.kg⁻¹ (0,04 mg.kg⁻¹ como dosis total) y la 5ª dosis de propranolol de 0,05 mg. kg⁻¹ (0,25 mg. kg⁻¹ como dosis total).

3.1.3 RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO DE LA DURACIÓN DEL BLOQUEO AUTONÓMICO SIMPÁTICO EN EL CERDO

En 11 animales se realizó una valoración completa de la duración del bloqueo simpático con la administración de una dosis test de isoproterenol de $0,4 \mu\text{g.kg}^{-1}$ hasta los 20 minutos desde finalizar el bloqueo autonómico. Como quiera que en un análisis preliminar se observó que existía una disminución del bloqueo simpático a los 20 minutos, se añadió la mitad de dosis de propranolol y se repitió el test de isoproterenol,

En la figura se muestra la evolución de la FC durante el estudio de la duración del bloqueo simpático con el test de la infusión de isoproterenol.

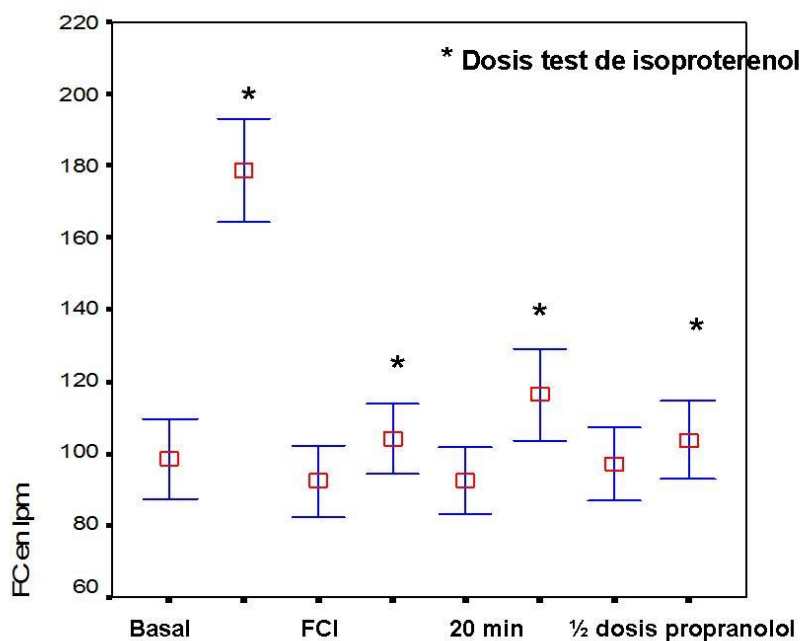


Figura 25. Evolución de la frecuencia cardíaca desde la situación basal y las sucesivas dosis de isoproterenol durante los primeros 20 minutos (señaladas con un asterisco). Los dos últimos valores se obtuvieron tras repetir la mitad de la dosis de propranolol. Puede observarse como el aumento de la FC con el test de isoproterenol está muy disminuido cuando finaliza el bloqueo autonómico. Trascurridos 20 minutos desde el bloqueo autonómico, el bloqueo simpático disminuye aumentando la FC, para retornar a los valores del final del bloqueo autonómico cuando se repite la mitad de la dosis de propranolol.

En la Tabla 10 se muestran los valores medios de la FC durante la realización de la valoración de la duración del bloqueo simpático.

Tabla 10: Valores medios de la frecuencia cardiaca antes y después de la administración de isoproterenol durante los primeros 20 minutos del bloqueo y tras repetir la mitad de la dosis de isoproterenol. Comparaciones realizadas entre los valores anteriores y posteriores a la administración de cada nueva dosis de isoproterenol

N= 11	Media ± DE	P
FC Pre- isoproterenol basal	98,54 ±16,74	0,001
FC Post- isoproterenol basal	178,72±21,21	
FC al final del bloqueo autonómico	92,45± 14,84	0,001
FC Post- isoproterenol al final del bloqueo autonómico	104,18±14,50	
FC a los 20 minutos del bloqueo autonómico pre- isoproterenol	92,45±13,65	0,001
FC a los 20 minutos del bloqueo autonómico post- isoproterenol	116,36±18,82	
FC tras la mitad de la dosis de propranolol a los 20 minutos del bloqueo autonómico pre- isoproterenol	97,27±15,15	0,006
FC tras la mitad de la dosis de propranolol a los 20 minutos del bloqueo autonómico post- isoproterenol	103,72±16,39	

FC: frecuencia cardiaca

Como puede observarse en las comparaciones realizadas entre la FC antes y después de la dosis de isoproterenol, se produjo un aumento significativo de la FC con la administración de isoproterenol.

Se hizo valoración de la efectividad del bloqueo simpático hasta los 40 minutos en 8 animales y hasta 60 minutos en 4 animales más. Los datos se reflejan en las tablas 11 y 12.

Tabla 11: Valores medios de la frecuencia cardiaca antes y después de la administración de isoproterenol durante los primeros 40 minutos del bloqueo y tras repetir la mitad de la dosis de propranolol cada 20 minutos. Comparaciones realizadas entre los valores anteriores y posteriores a la administración de cada nueva dosis de isoproterenol

N= 8	Media ± DE	P
FC Pre- isoproterenol basal	99,25 ±17	0,012
FC Post- isoproterenol basal	181,37±21,50	
FC al final del bloqueo autonómico	93,37± 14,67	0,012
FC Post- isoproterenol al final del bloqueo autonómico	107±11,7	
FC a los 20 minutos del bloqueo autonómico pre- isoproterenol	92,5± 12,14	0,012
FC a los 20 minutos del bloqueo autonómico post- isoproterenol	119,5± 15,2	
FC tras mitad de la dosis de propranolol a los 20 minutos del bloqueo autonómico pre- isoproterenol	97,12± 12,8	0,021
FC tras mitad de la dosis de propranolol a los 20 minutos del bloqueo autonómico post- isoproterenol	104,87±14,87	
FC a los 40 minutos del bloqueo autonómico pre- isoproterenol	91,25±11,8	0,012
FC a los 40 minutos del bloqueo autonómico post- isoproterenol	111,87±12,9	
FC tras mitad de la dosis de propranolol a los 40 minutos del bloqueo autonómico pre- isoproterenol	97,2±7,6	0,04
FC tras mitad de la dosis de propranolol a los 40 minutos del bloqueo autonómico post- isoproterenol	107,4±9,3	

FC: frecuencia cardiaca

Al igual que en el análisis realizado durante los primeros 20 minutos la administración de isoproterenol causó un aumento significativo de la FC a los 40 minutos del bloqueo autonómico. Este aumento de la FC con el test del isoproterenol, disminuyó cuando se repitió la mitad de la dosis de propranolol.

Tabla 12: Valores medios de la FC antes y después de la administración de isoproterenol durante los 60 minutos del bloqueo autonómico y tras repetir la mitad de la dosis de propranolol cada 20 minutos. Comparaciones realizadas entre los valores anteriores y posteriores a la administración de cada nueva dosis de isoproterenol

N= 4	Media \pm DE	P
FC Pre- isoproterenol basal	102,5 \pm 7	0,043
FC Post- isoproterenol basal	188 \pm 18,50	
FC al final del bloqueo autonómico	90,7 \pm 15,39	0,043
FC Post- isoproterenol al final del bloqueo autonómico	101,75 \pm 13,04	
FC a los 20 minutos del bloqueo autonómico pre- isoproterenol	90,25 \pm 10	0,043
FC a los 20 minutos del bloqueo autonómico post- isoproterenol	114,75 \pm 8,9	
FC tras mitad de la dosis de propranolol a los 20 minutos del bloqueo autonómico pre- isoproterenol	96 \pm 6,97	0,042
FC tras mitad de la dosis de propranolol a los 20 minutos del bloqueo autonómico post- isoproterenol	106,5 \pm 5,56	
FC a los 40 minutos del bloqueo autonómico pre- isoproterenol	90,5 \pm 10,7	0,042
FC a los 40 minutos del bloqueo autonómico post- isoproterenol	111,25 \pm 12,2	
FC tras mitad de la dosis de propranolol a los 40 minutos del bloqueo autonómico pre- isoproterenol	96,25 \pm 8,5	0,043
FC tras mitad de la dosis de propranolol a los 40 minutos del bloqueo autonómico post- isoproterenol	107,25 \pm 10,8	
FC a los 60 minutos del bloqueo autonómico pre- isoproterenol	88,75 \pm 9,6	0,068
FC a los 60 minutos del bloqueo autonómico post- isoproterenol	108,25 \pm 11	
FC tras mitad de la dosis de propranolol a los 60 minutos del bloqueo autonómico pre- isoproterenol	95,5 \pm 8,22	0,059
FC tras mitad de la dosis de propranolol a los 60 minutos del bloqueo autonómico post- isoproterenol	103,5 \pm 7,7	

FC: frecuencia cardiaca

La administración de isoproterenol causó un aumento de la FC a los 60 minutos del bloqueo autonómico, aunque este aumento fue en el límite de la significación estadística. Este aumento de la FC con el test del isoproterenol, disminuyó nuevamente, cuando se repitió la mitad de la dosis de propranolol. Se realizó un análisis de los valores absolutos del cambio de la FC en cada uno de los momentos del estudio. Los resultados se reflejan en la tabla 13

Tabla 13. Media y desviación estándar de la diferencia en lpm entre la FC antes y después de la administración de isoproterenol en los distintos momentos del estudio

	Media	Desviación Estándar
FC basal menos FC tras isoproterenol	79,53	15,5
FC fin del bloqueo autonómico menos FC tras isoproterenol	11,7	5,8
FC a los 20 min. del bloqueo autonómico menos FC tras isoproterenol	25,7	9,6
FC a los 20 min. del bloqueo autonómico y tras repetir la mitad de la dosis de propranolol menos FC tras isoproterenol	6,4	5,3
FC a los 40 min. del bloqueo autonómico menos FC tras isoproterenol	22,8	10,14
FC a los 40 min. del bloqueo autonómico y tras repetir la mitad de la dosis de propranolol menos FC tras isoproterenol	10,2	5,8
FC a los 60 min. del bloqueo autonómico menos FC tras isoproterenol	19,5	12,3
FC a los 60 min. del bloqueo autonómico y tras repetir la mitad de la dosis de propranolol menos FC tras isoproterenol	8	6

FC: frecuencia cardiaca

Se hizo además un análisis porcentual de los cambios en la FC con la administración de isoproterenol en los diferentes tiempos estudiados. Los resultados se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14. Cambio porcentual de la frecuencia cardiaca en respuesta a la administración de isoproterenol durante las diferentes fases del estudio

	Porcentaje absoluto	Porcentaje relativo a la respuesta basal
Basal	84±19	100%
Al finalizar el bloqueo autonómico	13±8	15%
A los 20 minutos del bloqueo autonómico	25±9	29%
A los 20 minutos del bloqueo autonómico y tras repetir la mitad de la dosis de propranolol	6±5	7%
A los 40 minutos del bloqueo autonómico	25±11	29%
A los 40 minutos del bloqueo autonómico y tras repetir la mitad de la dosis de propranolol	10±06	11,9%
A los 60 minutos del bloqueo autonómico	22±16	26%
A los 60 minutos del bloqueo autonómico y tras repetir la mitad de la dosis de propranolol	7±5	8%

En situación basal la administración de isoproterenol produjo un aumento intenso de la FC. Cuando se realizó el bloqueo autonómico esta respuesta disminuyó hasta un 15 % de la respuesta basal, recuperándose hasta cifras del 29% del valor basal a los 20 minutos. La administración de propranolol redujo nuevamente la respuesta al isoproterenol. Estos datos sugieren que la duración efectiva del bloqueo simpático es inferior a 20 minutos siendo necesario repetir la dosis de propranolol a partir de ese intervalo.

En la figura 32 se muestra la evolución de la frecuencia cardiaca con las sucesivas dosis test de isoproterenol a los largo del estudio. La respuesta al isoproterenol disminuyó tras finalizar el bloqueo autonómico, con recuperación de la misma a los 20 minutos. Se observa como con la administración de la mitad de la dosis de propranolol la respuesta al isoproterenol vuelve a disminuir.

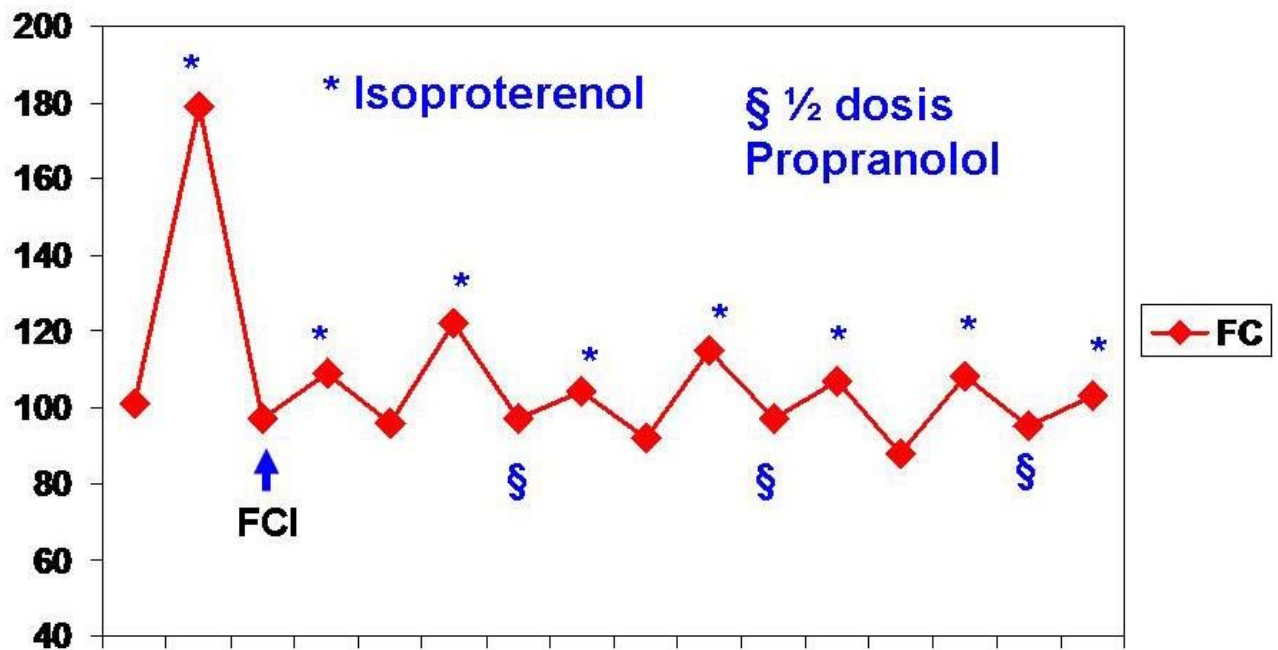


Figura 26: evolución de la frecuencia cardiaca con las sucesivas dosis test de isoproterenol, desde la situación basal hasta los 60 minutos del bloqueo autonómico. FCI: Frecuencia cardiaca intrínseca. FC: Frecuencia cardiaca

3.1.4 RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO DE LA DURACIÓN DEL BLOQUEO AUTONÓMICO PARASIMPÁTICO EN EL CERDO

Se hizo una valoración de la duración del bloqueo parasimpático en 11 animales adicionales. Los resultados de los datos generales del estudio se muestran en la tabla

Tabla 15. Datos generales del estudio. N=11

Variable	Valor
Peso (kg)	35,9±7,9
Dosis media de ketamina (mg.kg⁻¹)	19,4 ±2
Dosis media de propofol en la inducción (mg.kg⁻¹)	5,78±1
Tiempo instrumentalización: desde premedicación hasta fin de monitorización (min)	62±19
Duración total del procedimiento (min)	245±34

Los animales se mantuvieron estables durante todo el procedimiento. En la siguiente tabla se muestran los resultados de los valores hemodinámicos. No hubo diferencias significativas entre los valores basales y los obtenidos a lo largo del procedimiento.

Tabla 16. Datos hemodinámicas durante el estudio. N=11

	Basal	Fase Intermedia	Fin del estudio	P
FC	100±14	90±12	90±11	0,06
PAS	119±11	121±15	118±9	0,21
PAD	64±11	66±14	66±14	0,74
PAM	87±12	88±17	88±14	0,68

FC: frecuencia cardiaca; PAS: Presión arterial sistólica; PAD: Presión arterial diastólica; PAM: Presión arterial media.

En la figura puede verse la evolución de los parámetros hemodinámicos durante el estudio.

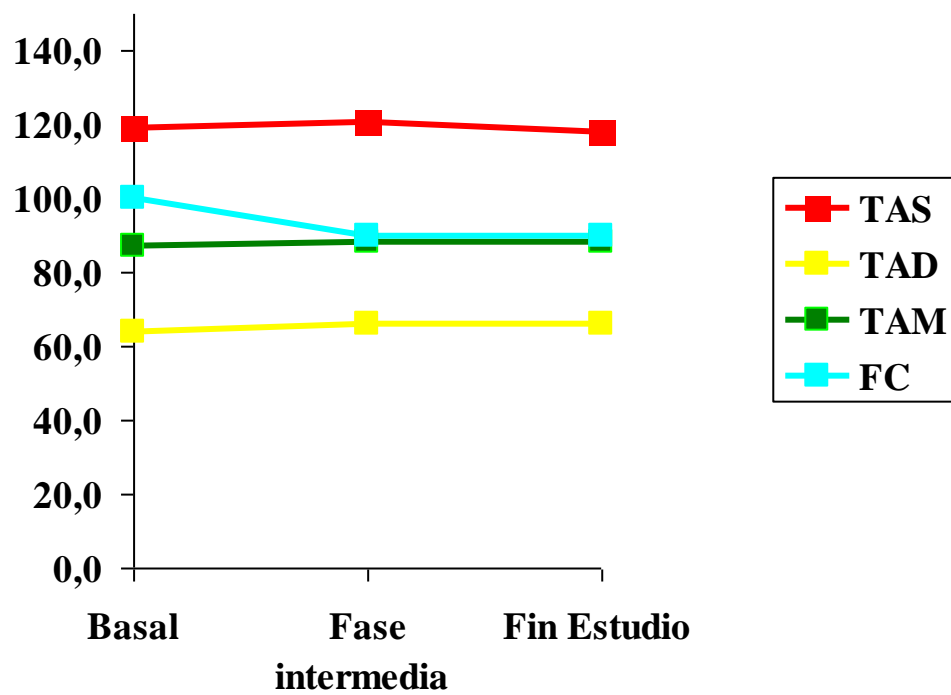


Figura 27. Evolución de la tensión arterial a lo largo del estudio. TAS: Tensión arterial sistólica, TAD: Tensión arterial diastólica, TAM: Tensión arterial media, FC: frecuencia cardiaca.

No hubo diferencias estadísticamente significativas en los parámetros gasométricos ni en los iones sanguíneos a lo largo del estudio, manteniéndose en rango fisiológico durante todo el procedimiento Tabla 17.

Tabla 17. Valores medios de las gasometrías arteriales e iones durante el protocolo de duración del bloqueo parasimpático. N=11

	Basal	Durante la realización del bloqueo autonómico	Fin del estudio	P
Na⁺ (mmol.l⁻¹)	38±2	137±4	137±3	0,34
K⁺ (mmol.l⁻¹)	3,1±0,25	3,3±0,37	3,3±0,25	0,34
Ca⁺⁺ (mmol.l⁻¹)	1,25±0,09	1,27±0,09	1,27±0,1	0,59
pH	7,51±0,05	7,48±0,04	7,48±0,05	0,1
PaO₂(mmHg)	460±129	482±81	466±115	0,83
PaCO₂(mmHg)	36±5	39±4	39±5	0,07
HCO₃⁻(mmol.l⁻¹)	29±2,2	29,5±1,8	26,5±8,5	0,47
EB (mmol.l⁻¹)	5,7±2.9	5,8±2.7	5.04±2.5	1
SatO₂ (%)	99,5±1	99,8±0,6	99,9±0,7	1
Hto (%)	28,2±5,2	27,8±7,9	26,1±5,6	0,44

Los datos reflejados representan la media ± desviación estándar, medidos en situación basal, durante la realización del bloqueo autonómico y al final del estudio. N=11

Los resultados de la valoración del bloqueo parasimpático están en la tabla 18.

Tabla 18. Datos de valoración del bloqueo parasimpático. N= 11

	Media ± desviación estándar
Dosis de acetilcolina que produjo pausa sinusal en situación basal (mg.kg⁻¹)	0,97±0,8
Duración de la pausa sinusal (en segundos)	4,3±3,2
Duración media del bloqueo parasimpático (en minutos)	129,45±61,7
Duración media del bloqueo parasimpático excluyendo dos animales que presentaron FV a los 50 y 80 minutos.	143,7± 58,6

La dosis media de acetilcolina que produjo pausa sinusal fue de 0,97 mg.kg⁻¹, siendo muy variable y dependiente de cada animal, así algunos animales presentaron pausa sinusal con dosis de 0,33 mg.kg⁻¹ frente a otros que precisaron una dosis muy elevada de hasta 3 mg.kg⁻¹.

La duración media del bloqueo parasimpático fue de 129 minutos, incluyendo dos casos en que los animales presentaron FV a los 50 y 80 minutos respectivamente. Si no consideramos a estos dos animales la media de duración del bloqueo fue de 144 ± 59 minutos, si bien algunos animales no presentaron signos de recuperación del bloqueo parasimpático hasta incluso 240 minutos después de haberse realizado el bloqueo autonómico.

Consideramos como recuperación del bloqueo cuando los animales presentaban con la administración de acetilcolina o bien una pausa inferior a 2 segundos, pero mayor de 1 segundo, o una pausa sinusal mayor de 2 segundos, similar a la obtenida de forma basal. Hay que destacar que se observaron indicios de recuperación de bloqueo parasimpático en el 55% de los animales. En estos la duración media del bloqueo parasimpático fue de 107,6±50 minutos frente a 155,6 ±69 minutos de duración, en los animales que no presentaron signos de recuperación del bloqueo parasimpático, aunque esta diferencia no fue significativa. (p=0,21)

La dosis de acetilcolina en los animales que mostraron datos de recuperación del bloqueo fue de $1,19 \pm 0,98 \text{ mg.kg}^{-1}$ frente a $0,7 \pm 0,61 \text{ mg.kg}^{-1}$ en los animales que no presentaron recuperación del bloqueo parasimpático. Nuevamente esta diferencia no fue significativa. ($p=0,36$)

Dos animales presentaron fibrilación ventricular con la administración de acetilcolina uno de ellos a los 80 minutos del bloqueo autonómico y el otro a los 50 minutos del bloqueo autonómico. En ambos casos la dosis de acetilcolina que se utilizó se situó en el rango superior de las dosis empleadas. (3 y $1,4 \text{ mg.kg}^{-1}$ respectivamente) Figura 34.

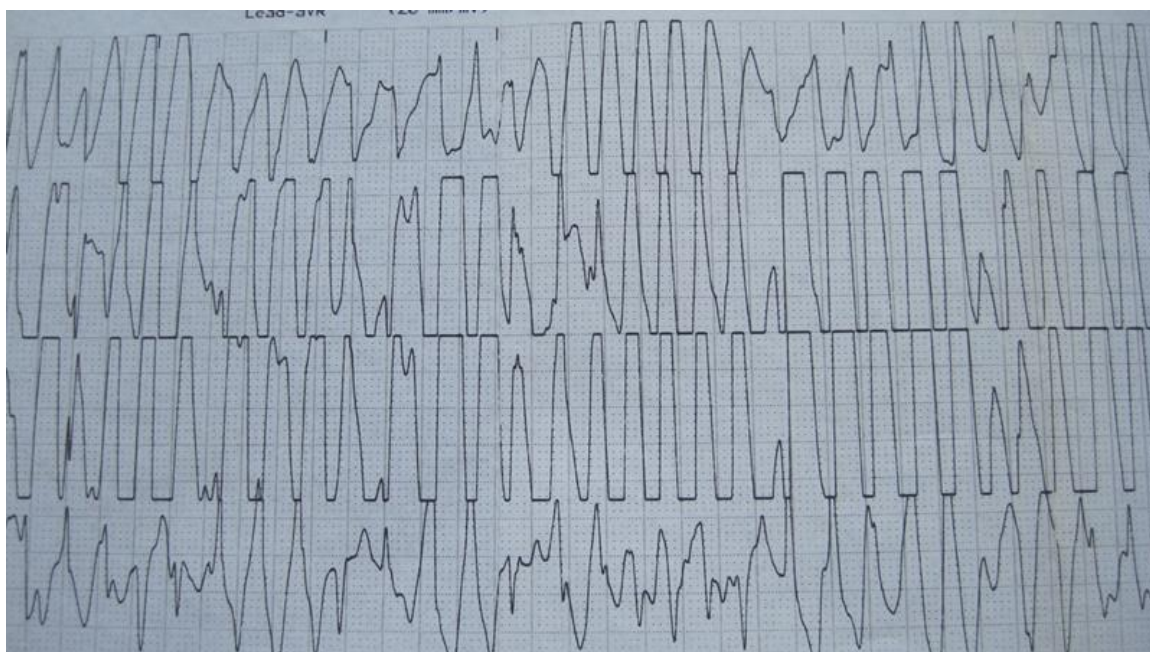


Figura 28: Fibrilación ventricular tras la administración de acetilcolina, en el experimento 9. En este caso la dosis que se estaba administrando estaba en el rango superior.

En las siguientes figuras se muestran algunos de los registros de los estudios realizados

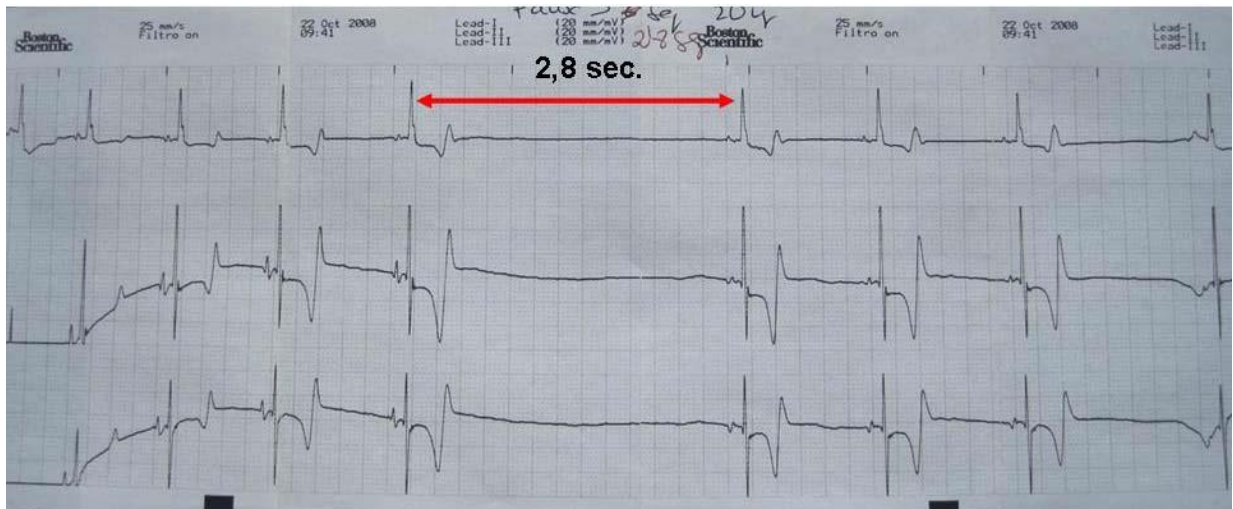


Figura 29: Ejemplo de presentación de una pausa sinusal tras la administración de acetilcolina en situación basal. En este caso la pausa fue de 2,8 segundos

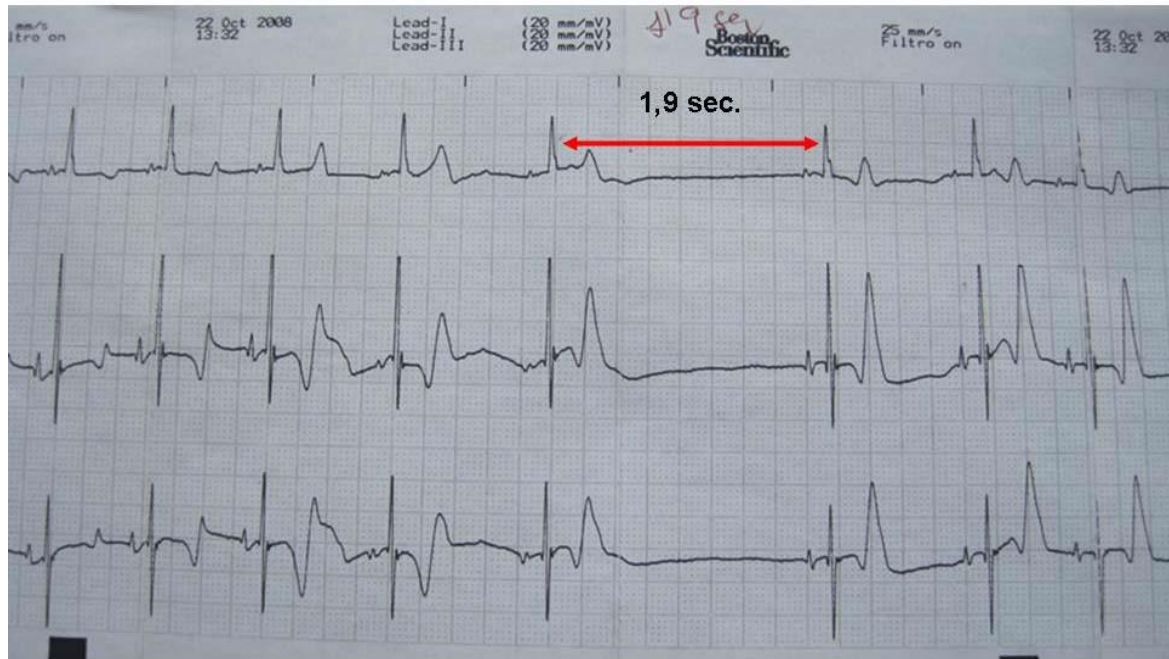


Figura 30: Ejemplo de recuperación, caso número 3: en situación basal el animal hizo una pausa sinusal de 2,9 segundos y a los 190 minutos del bloqueo autonómico presentó una pausa de 1,9 segundos sugiriendo que el bloqueo parasimpático ya no es era tan intenso.

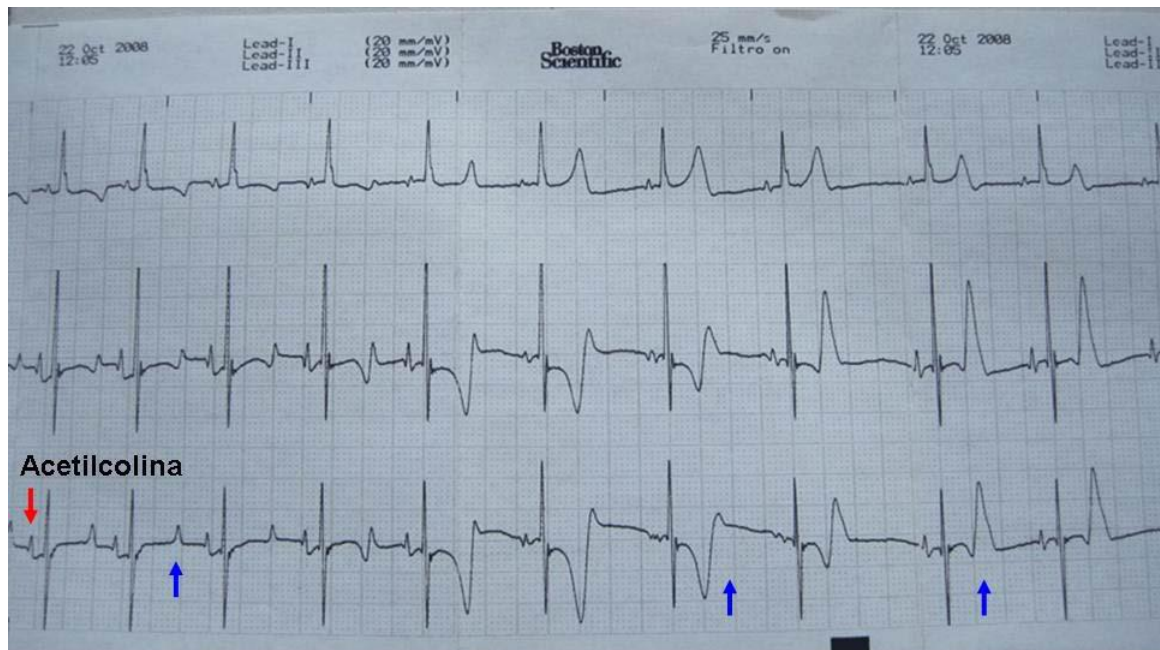


Figura 31: Ejemplo de las alteraciones en el ECG que se suceden con la administración de acetilcolina. Se observa como se produce un enlentecimiento de la FC acompañado de un cambio en el eje y morfología con un ensanchamiento de la onda T. Señalado con flechas de color azul.

3.1. 5. TABLAS DE RESULTADOS INDIVIDUALIZADOS. ESTUDIO DE BLOQUEO AUTONÓMICO

Tabla19: Resultados individualizados del estudio de la frecuencia cardiaca intrínseca

Ca so nº	FC Bas al	1ª dosis Atrop ina	2ª dosis Atrop ina	3ª dosis Atrop ina	4ª dosis Atrop ina	5ª dosis Atrop ina	1ª dosis propran olol	2ª dosis propran olol	3ª dosis propran olol	4ª dosis propran olol	5ª dosis propran olol
1	54	81	88	97	102	102	96	96	93	92	92
2	102	120	124	126	126	126	121	123	118	119	119
3	131	144	149	150	150	150	139	137	136	135	135
4	88	95	98	101	97	97	96	96	95	95	95
5	103	104	111	114	116	118	114	104	103	101	101
6	93	94	93	91	90	91	91	92	93	94	94
7	113	117	117	114	114	114	108	108	108	106	106
8	86	84	84	84	82	82	80	75	73	71	70
9	107	115	115	115	115	115	111	111	113	110	110
10	113	114	115	116	117	117	110	108	108	107	107
11	93	95	103	90	92	94	82	83	78	78	78
12	66	80	84	84	83	83	80	78	79	77	76
13	101	104	96	94	95	95	95	91	91	91	91
14	104	101	104	115	118	125	113	98	90	87	87
15	99	116	125	135	134	135	123	124	122	117	113
16	94	95	94	94	93	93	91	85	85	84	84

Tabla 20. Resultados individualizados del estudio de la duración del bloqueo simpático

CAS O	FC B	FCI B	FCI	FC BI	FC2 OB	FC20 BI	FC2 OP	FC20 PI	FC4 OB	FC40 BI	FC4 OP	FC40 PI	FC6 OB	FC60 BI	FC6 OP	FC60 PI
2	11 2	16 7	11 9	12 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	13 6	19 9	13 5	14 4	136	160	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	88	19 5	95 1	11	97	124	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	97	15 9	10 1	11 7	103	149	-	-	99	140	-	-	-	-	-	-
6	95	17 1	94 0	10	97	117	105	106	-	-	-	-	-	-	-	-
7	11 7	19 5	10 6	11 6	110	131	117	121	-	-	-	-	-	-	-	-
8	78	14 9	70	74	70	76	71	75	-	-	-	-	-	-	-	-
9	10 7	18 7	11 0	11 7	100	141	109	110	97	116	-	-	-	-	-	-
10	11 4	18 2	10 7	12 2	112	142	114	123	106	132	-	-	-	-	-	-
11	93 4	16 13	78 76	88 10	78	106	90	107	81	118	92	112	79	116	90	101
12	60	13 8	76 2	10	76	105	73	72	72	95	-	-	-	-	-	-
13	10 3	19 2	91 8	10	91	109	97	108	93	107	101	108	-	-	-	-
14	10 3	20 9	88 3	10	88	111	93	104	88	102	93	101	87	102	98	103
15	10 4	18 7	10 9	11 9	102	127	106	114	106	125	109	120	102	120	106	111
16	11 0	19 2	84	97	93	115	95	101	87	100	91	96	87	95	88	93

FCB: Frecuencia cardiaca basal; FCIB: Frecuencia cardiaca tras isoproterenol basal; FCI: Frecuencia cardiaca intrínseca; FCBI: frecuencia cardiaca al final del bloqueo autonómico tras isoproterenol; FC20B: Frecuencia cardiaca a los 20 minutos del bloqueo; FC20BI: Frecuencia cardiaca a los 20 minutos del bloqueo tras isoproterenol; FC20P: Frecuencia cardiaca a los 20 minutos del bloqueo más mitad de dosis de propranolol; FC20PI: frecuencia cardiaca a los 20 minutos del bloqueo mas mitad de dosis de propranolol y tras isoproterenol; FC40B: frecuencia cardiaca a los 40 minutos del bloqueo; FC40BI: Frecuencia cardiaca a los 40 minutos del bloqueo tras isoproterenol; FC40P: Frecuencia cardiaca a los 40 minutos del bloqueo más mitad de dosis de propranolol; FC40PI: frecuencia cardiaca a los 40 minutos del bloqueo mas mitad de dosis de propranolol y tras isoproterenol; FC60B: Frecuencia cardiaca a los 60 minutos del bloqueo; FC60BI: Frecuencia cardiaca a los 60 minutos del bloqueo tras isoproterenol; FC60P: Frecuencia cardiaca a los 60 minutos del bloqueo más ½ dosis de propranolol; FC60PI: frecuencia cardiaca a los 60 minutos del bloqueo mas mitad de dosis de propranolol y tras isoproterenol.

3.2. RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO DEL REMIFENTANILO EN CONDICIONES DE BLOQUEO AUTONÓMICO

3.2.1 RESULTADOS ANESTÉSICOS

El estudio pudo completarse en los 9 animales. En la Tabla 21 se pueden observar los resultados de los datos generales del procedimiento. El peso medio de los animales fue de $33,5 \pm 7,8$ kg, siendo necesaria una dosis media de $5,27 \pm 1,3$ mg.kg⁻¹ de propofol para conseguir la inducción anestésica y facilitar la intubación endotraqueal.

La duración del estudio desde el comienzo de la inducción anestésica hasta la finalización de los protocolos fue de $216,6 \pm 27$ min.

Tabla 21. Datos generales de los animales (n=9)

Variable	Valor
Peso (kg)	$33,5 \pm 7,8$
Dosis media de ketamina (mg.kg)	20 mg
Dosis media de propofol en la inducción (mg.kg⁻¹)	$5,27 \pm 1,3$
Tiempo de duración de la instrumentalización (min)	68 ± 19
Duración del estudio electrofisiológico basal (min)	54 ± 12
Duración del estudio electrofisiológico con remifentanilo (min)	49 ± 12
Duración total del procedimiento (min)	$216,6 \pm 27$

En la tabla 22 se muestran los datos de los valores gasométricos y de iones a lo largo del estudio. No hubo diferencias estadísticamente significativas en los parámetros gasométricos en ambos periodos de estudio, manteniéndose en rango fisiológico.

Tabla 22. Valores medios de las gasometrías arteriales e iones durante los protocolos electrofisiológicos en situación basal y con la administración de remifentanilo. Ambos estudios en condiciones de bloqueo autonómico: N=9

	Estudio electrofisiológico basal	Estudio electrofisiológico remifentanilo	P
Na⁺ (mmol.l-1)	139±1,2	139±1,9	0,62
K⁺ (mmol.l-1)	3,57±0,4	3,6±0,3	0,87
Ca⁺⁺ (mmol.l-1)	1,32±0,06	1,37±0,09	0,25
pH	7,46±0,05	7,46±0,04	0,73
PaO₂(mmHg)	486±76	465±98	0,17
PaCO₂(mmHg)	41±4,7	39,5±4,8	0,24
HCO₃-(mmol.l-1)	29±2,2	28±2,3	0,19
EB (mmol.l-1)	4,9±2.9	5±2.5	0,18
SaO₂ (%)	100	100	-

Los datos reflejados representan la media ± desviación estándar, medidos durante el estudio electrofisiológico basal y tras la administración de remifentanilo. N=9

La frecuencia cardiaca intrínseca en este grupo tras finalizar el bloqueo autonómico fue de 88±17 lpm, siendo la FC basal de 84 ± 17 lpm.

En la tabla 23 se muestran los datos hemodinámicos y de frecuencia cardiaca realizados durante los dos protocolos electrofisiológicos, en situación basal y con la administración de remifentanilo. Como puede apreciarse los resultados fueron comparables en ambos protocolos con excepción de la frecuencia cardiaca que disminuyó de forma significativa tras la administración de remifentanilo.

Tabla 23. Parámetros hemodinámicos durante los protocolos electrofisiológicos en situación basal y con la administración de remifentanilo. Ambos estudios en condiciones de bloqueo autonómico: N=9

	Estudio electrofisiológico basal	Estudio electrofisiológico remifentanilo	P
FC	87±17	81±17	0,02
PAS	103±16	95±12	0,23
PAD	63±14	56±11	0,10
PAM	85±17	75±12	0,73

FC: frecuencia cardíaca; PAS: Presión arterial sistólica; PAD: Presión arterial diastólica; PAM: Presión arterial media.

3.2.2. RESULTADOS ELECTROFISIOLÓGICOS

Los datos electrofisiológicos se muestran en la tabla 24.

Tabla 24. Parámetros electrofisiológicos en ambos periodos en situación basal y tras la administración de remifentanilo. Ambos estudios en condiciones de bloqueo autonómico: N=9

Parámetros	Estudio electrofisiológico basal (media \pm DS)	Estudio electrofisiológico Remifentanilo (media \pm DS)	p
LCS	717 \pm 128	767 \pm 150	0,03
TCSA	40 \pm 8	39 \pm 8	0,86
TRNS	927 \pm 204	989 \pm 207	0,07
TRCNS	196 \pm 80	191 \pm 75	0,81
AH	86 \pm 12	103 \pm 15	0,05
HV	34 \pm 2,8	36 \pm 5,2	0,32
P de Wenckebach,	266 \pm 62	287 \pm 78	0,054
PRENAV Ciclo Corto	262 \pm 15	270 \pm 43	0,65
PRENAV Ciclo Largo	320 \pm 24	320 \pm 29	1
Umbral Auricular (mA)	0,41 \pm 0,21	0,34 \pm 0,22	0,14
PREAD Ciclo corto	197 \pm 38	202 \pm 38	0,38
PREAD Ciclo largo	200 \pm 38	206 \pm 31	0,5
Umbral Ventricular (mA)	0,31 \pm 0,10	0,31 \pm 0,21	1
PREVD Ciclo corto	255 \pm 23	275 \pm 38	0,04
PREVD Ciclo largo	310 \pm 33	324 \pm 32	0,91
Intervalo QT	397 \pm 63	480 \pm 83	0,003
Intervalo QTc	482 \pm 65	532 \pm 86	0,09

LCS: Longitud del ciclo sinusal, **TCSA:** Tiempo de conducción sinoauricular, **TRNS:** Tiempo de recuperación del nodo sinusal, **TRCNS:** Tiempo de recuperación corregido del nodo sinusal. **AH:** Intervalo auricular-His, **HV:** intervalo His-ventrículo, **AV:** intervalo aurículo-ventricular **PW:** Punto de Wenckebach, **PRENAV:** Periodo refractario efectivo del nodo AV, **PREAD:** Periodo refractario efectivo de aurícula derecha, **PREVD:** Periodo refractario efectivo de ventrículo derecho. Tiempos en milisegundos (ms).

Como puede observarse hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos periodos en la LCS, en el intervalo AH, intervalo AV, PRVD con ciclo corto de estimulación y el intervalo QT que se prolongaron con la administración de remifentanilo. Destacar así mismo otros parámetros que se modificaron aunque en el límite de la significación estadística con la administración de remifentanilo como fue el TRNS, el punto de Wenckebach y el intervalo QT corregido por la frecuencia cardiaca.

En las siguientes figuras se muestran algunos ejemplos de los parámetros electrofisiológicos medidos.

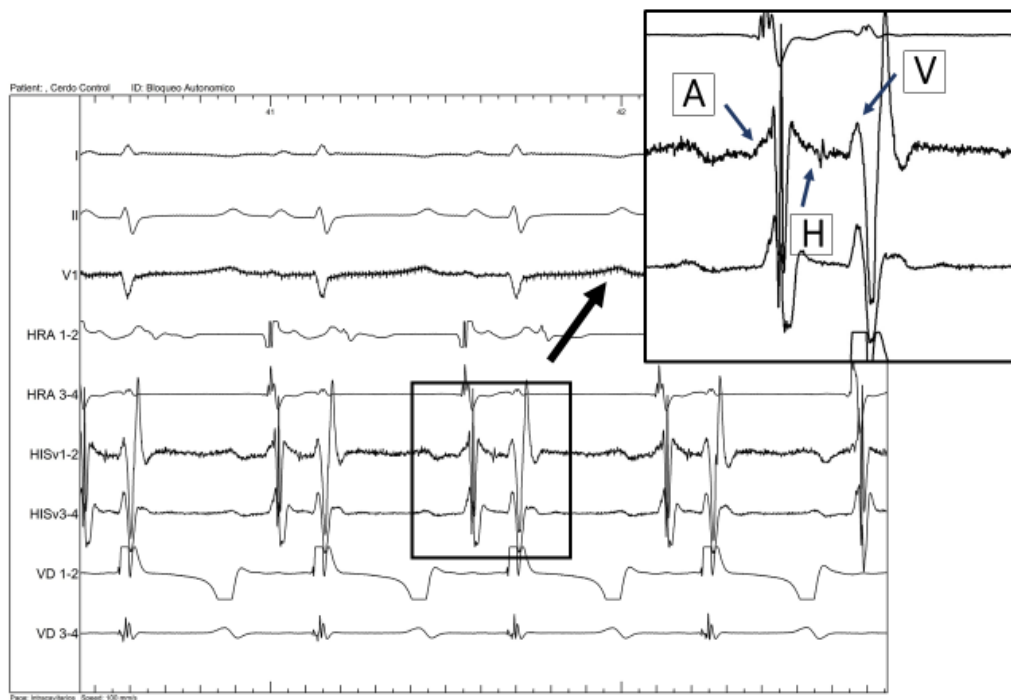


Figura 32: Intervalos de conducción. La figura muestra las derivaciones I, II y V1, las derivaciones endocavitarias de la aurícula derecha, el haz de His y el ventrículo derecho. A: electrograma auricular, H: electrograma de HIS, V: electrograma ventricular



Figura 33: Tiempo de recuperación del nodo sinusal. La figura muestra las derivaciones I,II y V1, las derivaciones endocavitarias de la aurícula derecha, el ventrículo derecho y el haz de His y la curva de la presión arterial. La interrupción de la estimulación auricular a un ciclo de 450 ms da lugar a una pausa sinusal de 682 ms.

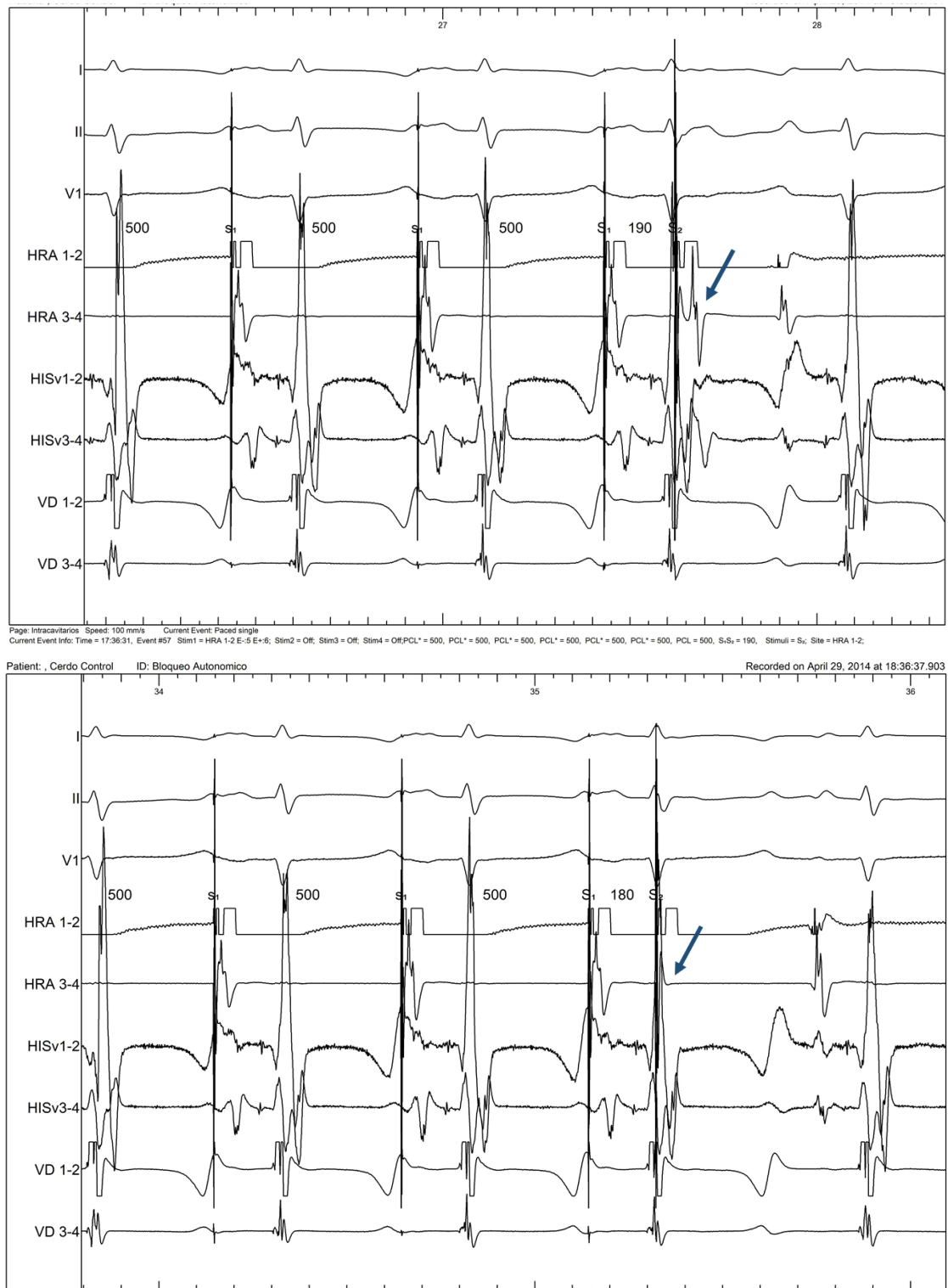


Figura 34. Evaluación del periodo refractario efectivo de la aurícula derecha. La figura muestra las derivaciones I,II y V1, las derivaciones endocavitarias de la aurícula derecha, el ventrículo derecho y el haz de His y la curva de la presión arterial. En el panel superior tras el ciclo básico de estimulación a 500

ms, la aplicación de un extraestímulo a 190 ms se sigue de un electrograma auricular. En el panel inferior un extraestímulo a 180 ms no se sigue de respuesta auricular.

Como quiera que este estudio se planteo a la vista de los resultados previos obtenidos por nuestro grupo de investigación, que evaluó los efectos del remifentanilo en condiciones anestésicas habituales sin bloqueo autonómico, se muestran a continuación los incrementos porcentuales producidos con el remifentanilo en situación con o sin bloqueo autonómico.

Tabla 25. Se muestran los incrementos porcentuales en los parámetros electrofisiológicos al administrar remifentanilo en situación con o sin bloqueo autonómico. En ambos casos el anestésico de mantenimiento fue el sevoflurano

Parámetros	Remifentanilo sin bloqueo autonómico (n=18) (media ± DS)	Remifentanilo + Bloqueo autonómico (n=9)(media ± DS)	p
Δ LCS	20±12,5	7±07	0,009
Δ TCSA	45±58	0,0009 ±19	0,03
Δ TRNS	52±83	7±10	0,03
Δ TRCNS	162±244	3±29	0,01
Δ AH	22±22	22±22	0,95
Δ HV	5±6	6±13	0,88
Δ AV	13±15	15±14	0,78
Δ PW	14±14	7±09	0,20
Δ PRENAV Ciclo Corto	9±13	4±21	0,47
Δ PRENAV Ciclo Largo	12±14	0,4±11	0,07
Δ PREAD Ciclo corto	9±19	3±8	0,4
Δ PREAD Ciclo largo	11,4±18	3±11	0,23
Δ PREVD Ciclo corto	4,7±25	7±12	0,74
Δ PREVD Ciclo largo	0,8±12	4±3	0,39

LCS: Longitud del ciclo sinusal, **TCSA:** Tiempo de conducción sinoauricular, **TRNS:** Tiempo de recuperación del nodo sinusal, **TRCNS:** Tiempo de recuperación corregido del nodo sinusal. **AH:** Intervalo auricular-His, **HV:** intervalo His-ventrículo, **AV:** intervalo aurículo-ventricular **PW:** Punto de Wenckebach, **PRENAV:** Periodo refractario efectivo del nodo AV, **PREAD:** Periodo refractario efectivo de aurícula derecha, **PREVD:** Periodo refractario efectivo de ventrículo derecho. Tiempos en milisegundos (ms).

Como puede observarse los cambios en los parámetros electrofisiológicos tras la administración de remifentanilo en condiciones anestésicas habituales fueron muy intensas en comparación con los cambios en situación de bloqueo

autonómico. Los parámetros mas afectados de forma estadísticamente significativa fueron: la LCS que aumentó un 20% sin bloqueo autonómico en relación a un 7% con bloqueo autonómico; el TCSA que se incrementó un 45% sin bloqueo autonómico versus un 0,0009% con bloqueo autonómico; el TRNS que aumentó un 52% sin bloqueo autonómico frente a 7% con bloqueo autonómico y el TRNSC que aumentó un 162% sin bloqueo autonómico en relación a un 3% con bloqueo autonómico. Destacar así mismo que el PRENAV con ciclo largo de estimulación aumentó más en situación sin bloqueo autonómico un 12% frente a un 4% con bloqueo autonómico aunque esta diferencia se manutuvo en el límite de la significación estadística.

3.3. RESULTADOS DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO EN EL GRUPO CONTROL: BLOQUEO AUTONÓMICO SIN REMIFENTANILO

Para evaluar el posible impacto del tiempo de duración del estudio en los parámetros electrofisiológicos se realizó un grupo control con 4 animales en el que se sustituyó la administración de remifentanilo por salino. Ambos estudios electrofisiológicos se realizaron en situación de bloqueo autonómico y el anestésico de mantenimiento fue el sevoflurano.

3.3.1 RESULTADOS ANESTÉSICOS

Tabla 26. Datos generales en el grupo control. N=4

Variable	Valor
Peso (kg)	42±2
Dosis media de ketamina (mg.kg)	20 mg
Dosis media de propofol en la inducción (mg.kg ⁻¹)	4,3±0,56
Tiempo de duración de la instrumentalización (min)	101±13
Duración del estudio electrofisiológico basal (min)	45±11
Duración del estudio electrofisiológico con remifentanilo (min)	41±14
Duración total del procedimiento (min)	195±18

En la tabla 27 se muestran los datos de los valores gasométricos y de iones a lo largo del estudio. No hubo diferencias estadísticamente significativas en los parámetros gasométricos en ambos periodos de estudio, manteniéndose en rango fisiológico.

Tabla 27. Valores medios de las gasometrías arteriales e iones durante los protocolos electrofisiológicos en situación basal y con la administración de salino. Ambos estudios en condiciones de bloqueo autonómico: N=4

	Estudio electrofisiológico basal	Estudio electrofisiológico remifentanilo	P
Na⁺ (mmol.l-1)	136±2	137±5	0,69
K⁺ (mmol.l-1)	3,56±0,25	3,3±0,25	0,42
Ca⁺⁺ (mmol.l-1)	1,29±0,07	1,25±0,08	0,65
pH	7,51±0,02	7,50±0,03	0,80
PaO2(mmHg)	447±34	454±26	0,78
PaCO2(mmHg)	37±4	38±4	0,06
HCO3⁻(mmol.l-1)	29±4	30±4	0,52
EB (mmol.l-1)	6±4	7±5	0,6
SaO2 (%)	100	100	-

Los datos reflejados representan la media ± desviación estándar, medidos durante el estudio electrofisiológico basal y tras la administración de salino. N=4

La frecuencia cardiaca intrínseca en este grupo tras finalizar el bloqueo autonómico fue de 97±11 lpm, siendo la FC basal de 92 ± 8 lpm.

En la tabla 28 se muestran los datos hemodinámicos y de frecuencia cardiaca realizados durante los dos protocolos electrofisiológicos, en situación basal y con la administración de salino. Como puede apreciarse los resultados fueron comparables en ambos protocolos sin apreciarse cambios a lo largo del estudio con la administración de salino.

Tabla 28. Parámetros hemodinámicos durante los protocolos electrofisiológicos en situación basal y con la administración de remifentanilo. Ambos estudios en condiciones de bloqueo autonómico: N=4

	Estudio electrofisiológico basal	Estudio electrofisiológico salino	P
FC	95±10	95±12	0,89
PAS	102±2	101±5	0,82
PAD	63±4	61±3	0,62
PAM	79±4	75±5	0,12

FC: frecuencia cardiaca; PAS: Presión arterial intrínseca; PAD: Presión arterial diastólica; PAM: Presión arterial media.

3.3.2. RESULTADOS ELECTROFISIOLÓGICOS

Los datos electrofisiológicos se muestran en la Tabla 29.

Tabla 29. Parámetros electrofisiológicos en situación basal y tras la administración de salino. Ambos estudios en condiciones de bloqueo autonómico. El anestésico de mantenimiento fue sevoflurano. N=4

Parámetros	Estudio electrofisiológico basal (media \pm DS)	Estudio electrofisiológico salino (media \pm DS)	P
LCS	627 \pm 85	638 \pm 83	0,35
TCSA	41 \pm 13	44 \pm 12	0,27
TRNS	777 \pm 128	792 \pm 117	0,22
TRCNS	140 \pm 58	140 \pm 44	0,97
AH	91 \pm 12	89 \pm 19	0,79
HV	42 \pm 6	42 \pm 8	0,62
AV	132 \pm 9	131 \pm 19	0,94
P de Wenckebach,	230 \pm 16	243 \pm 22	0,08
PRENAV Ciclo Corto	260 \pm 22	260 \pm 22	-
PRENAV Ciclo Largo	325 \pm 29	343 \pm 28	0,23
Umbral Auricular (mA)	0,22 \pm 0,09	0,22 \pm 0,09	-
PREAD Ciclo corto	183 \pm 41	193 \pm 51	0,25
PREAD Ciclo largo	193 \pm 45	195 \pm 50	0,71
Umbral Ventricular (mA)	0,27 \pm 0,09	0,25 \pm 0,05	0,71
PREVD Ciclo corto	250 \pm 22	257 \pm 26	0,06
PREVD Ciclo largo	297 \pm 39	293 \pm 54	0,63
Intervalo QT	364 \pm 57	380 \pm 62	0,15
Intervalo QTc	447 \pm 57	467 \pm 65	0,39

LCS: Longitud del ciclo sinusal, **TCSA:** Tiempo de conducción sinoauricular, **TRNS:** Tiempo de recuperación del nodo sinusal, **TRCNS:** Tiempo de recuperación corregido del nodo sinusal. **AH:** Intervalo auricular-His, **HV:** intervalo His-ventrículo, **AV:** intervalo aurículo-ventricular **PW:** Punto de Wenckebach, **PRENAV:** Periodo refractario efectivo del nodo AV, **PREAD:** Periodo refractario efectivo de aurícula derecha, **PREVD:** Periodo refractario efectivo de ventrículo derecho. Tiempos en milisegundos (ms).

Como puede observarse en la tabla 29 en el grupo control no se observaron cambios significativos en ninguno de los parámetros electrofisiológicos evaluados desde la situación basal a tras la administración de salino.

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

4. 1. ESTUDIO DEL BLOQUEO AUTONÓMICO EN EL CERDO

El principal hallazgo de la primera parte del estudio ha sido establecer que la dosis de atropina y propranolol que produce denervación autonómica eficaz, en el presente modelo experimental porcino, ha sido de $0,04 \text{ mg.kg}^{-1}$ y de $0,25 \text{ mg.kg}^{-1}$ respectivamente. De igual manera el segundo hallazgo relevante de nuestra investigación ha sido establecer la duración efectiva de un bloqueo simpático intenso, resultando ser inferior a 20 minutos. Finalmente hemos establecido la duración efectiva del bloqueo parasimpático con la dosis empleada de atropina de 129 minutos.

Durante muchos años el aislamiento del corazón en los animales ha sido utilizado por los fisiólogos, para investigar la función intrínseca cardíaca, excluyendo los estímulos nerviosos y humorales que pueden modificar profundamente su función. El SNA inerva el corazón de la misma manera que otros órganos. La exclusión de los impulsos extrínsecos hacia las células marcapasos del tejido cardíaco consigue que el corazón lata a una frecuencia que ha sido denominada “frecuencia cardíaca intrínseca” (FCI). Esta frecuencia depende en teoría exclusivamente de la frecuencia de despolarización natural de las células marcapasos más rápidas, presumiblemente del nodo sinoauricular (Jose y Taylor, 1969; Jose et al., 1970 (a); Jose et al., 1970 (b); Jose et al., 1966). Con la denervación del corazón podemos investigar y conocer la función cardíaca en ciertas condiciones clínicas en las que el su control neuronal está alterado o ausente (Kent y Cooper, 1974)

Los estudios que han evaluado la función intrínseca cardíaca en animales, en general han sido realizados bien con denervación quirúrgica o con denervación farmacológica. Las técnicas quirúrgicas más utilizadas han sido la vaguectomía mediante sección quirúrgica secuencial a nivel cervical y torácico asociado a gangliectomía simpática, el autotrasplante cardíaco que se asocia con una gran morbilidad, y la denervación pericárdica (Donald, 1974). La denervación quirúrgica produce una descentralización mas que una denervación de las

células marcapasos. Las fibras simpáticas postganglionares degeneran como consecuencia de la denervación quirúrgica, pero se puede desencadenar una respuesta cronotrópica positiva cuando el sistema nervioso simpático es estimulado. La estimulación puede liberar catecolaminas de la médula adrenal y de las terminaciones simpáticas no cardíacas, produciendo un efecto humoral en el corazón denervado. Además no existe una técnica quirúrgica que elimine completamente las estructuras ganglionares y postganglionares parasimpáticas para conseguir una verdadera denervación colinérgica de las células marcapasos. Otros autores también consideran que tras la denervación quirúrgica, el corazón puede manifestar una sensibilidad aumentada tanto a las catecolaminas como a los agentes colinérgicos (Evans et al., 1990). Esta supersensibilidad se debe a que está anulada la recaptación de los neurotransmisores por las terminaciones nerviosas, lo que conduce a un aumento de su concentración en los receptores y un aumento de sus efectos. (Kent y Cooper, 1974). Finalmente algunos estudios han mostrado que puede existir una reinervación tras la cirugía. Todas estas razones hacen que los datos obtenidos en los modelos de denervación autonómica quirúrgica puedan ser confusos. Así mismo la mayor agresividad y manipulación del modelo experimental hacen que las técnicas quirúrgicas sean suplantadas por los métodos farmacológicos en los estudios en los que se pretende realizar un bloqueo autonómico.

Con el bloqueo de los impulsos naturales simpáticos y vagales al corazón con propranolol y atropina administrados de forma conjunta, podemos reproducir un estado que se aproxima de forma estrecha al aislamiento del corazón en el animal intacto, sin la necesidad de cirugía ni de circulación extracorpórea.

La posibilidad de estandarizar en un determinado modelo experimental la dosis de los fármacos que producen denervación autonómica, permitiría en futuros estudios en los que se precise de un modelo experimental preclínico, que pueda realizarse el BA de una forma más precisa y segura sin sobredosificar o infradosificar a los animales.

La revisión de los diferentes modelos animales muestra una gran confusión sobre todo derivada de la metodología empleada. Esta variabilidad depende, entre otros de la sedación empleada, la anestesia, el estado de excitación del

animal, los fármacos utilizados, las dosis de los mismos y de los intervalos de administración empleados.

Analizando los resultados en las diferentes especies, vemos como en el perro se han realizado varios estudios en los que se ha investigado la denervación cardíaca. Así, Evans et al. estudiaron la FCI en 51 perros en los que se realizó denervación farmacológica asociada o no a denervación quirúrgica. Los animales fueron divididos en tres grupos, en el primero (14 animales) o grupo control, no se realizó manipulación quirúrgica; en el segundo grupo (14 animales) se realizó denervación quirúrgica pericárdica mediante toracotomía, y en el tercer grupo (6 animales) se realizó parasimpatectomía mediante la ablación selectiva quirúrgica del nodo sinoauricular. Los animales en el grupo quirúrgico fueron evaluados tras un periodo de recuperación postoperatoria que varió entre 12-80 días. Para el bloqueo farmacológico efector, utilizaron un protocolo diferente en función del grupo evaluado, así en el grupo control y en el grupo de denervación quirúrgica pericárdica, utilizaron propranolol en dosis de 1 mg/kg que se repitió a los 30 minutos; atropina en dosis de 0,1 mg/kg y finalmente asociaron fenoxibenzamina en dosis de 25 mg/kg. Estudiaron además otro grupo adicional de animales (15 como grupo control, y 6 con denervación quirúrgica pericárdica) en los que además asociaron hexametonio 20 mg/kg y atropina 0,1 mg/kg, para producir bloqueo ganglionar. Finalmente en el grupo en el que hicieron ablación quirúrgica del nodo sinoauricular (6 animales) utilizaron propranolol 1 mg/kg y atropina 0,1 mg/kg (Evans et al., 1990). Estos autores observaron que la FCI obtenida fue diferente en función del procedimiento de estudio realizado, siendo las cifras más elevadas en el grupo control, ($142,9 \pm 7,2$ lpm) seguidas del grupo con ablación quirúrgica del nodo sinoauricular ($115,8 \pm 4,3$ lpm) y finalmente las cifras inferiores se obtuvieron en el grupo al que se realizó denervación quirúrgica pericárdica ($97,9 \pm 4,8$ lpm). Otro de los hallazgos que obtuvieron fue que no hubo diferencias en cada uno de los subgrupos estudiados entre la frecuencia cardíaca obtenida con el bloqueo farmacológico efector y la obtenida con la asociación de un bloqueante ganglionar (hexametonio). Los resultados de este estudio sugieren que la determinación de la FCI no es una constante y es dependiente en gran medida de la innervación autonómica previa que presente el animal (Evans et al., 1990).

Otros investigadores estudiaron la FCI con diferentes tipos de anestesia en un modelo experimental realizado en perros. Realizaron el estudio en 19 animales en tres situaciones posibles: sin sedación, con neuroleptoanestesia o tras anestesia con pentobarbital sódico. El objetivo que pretendían era desarrollar una pauta de denervación en el perro, que fuera aplicable de forma independiente a la técnica de anestesia empleada. Los fármacos utilizados para producir el bloqueo autonómico fueron: fenoxibenzamina 2 mg/kg; propranolol 2 mg/kg en bolo, seguido de una perfusión continua de 2 mg/kg/h; atropina 0,5 mg/kg en bolo, continuando con una infusión de 0,5 mg/kg/h; y hexametonio 20 mg/kg en bolo, seguido de una infusión continua de 10 mg/kg/h; o bien atropina más sección del vago a nivel cervical en lugar de hexametonio. Realizaron un total de 76 experimentos y obtuvieron que la FCI fue de 142,8 lpm, con una gran variación interindividual. El estudio mostró que la determinación de la FCI fue posible e independiente del tipo de anestesia empleado, así mismo los autores sugieren que el concepto de FCI no es una variable constante dependiente de la especie (Brunsting et al., 1983).

Trabajos posteriores y en diferentes contextos experimentales muestran otros patrones farmacológicos en la realización del BA. Así Talajic y Nattel, en un estudio realizado en perros valoraron las acciones de los agentes calcio-antagonistas en la conducción y refractariedad auriculo-ventricular, eliminando la influencia del SNA. Con ello se pretendía evitar los efectos reflejos de estos fármacos en el nodo auriculo-ventricular mediados por el SNA. Estos autores utilizaron para la denervación: atropina 1 mg iv, propranolol en dosis de 0,3 mg.kg⁻¹ en bolo asociado a una infusión continua de 0,45 mg.kg⁻¹.h⁻¹ (Talajic y Nattel, 1986).

De forma más reciente en un estudio realizado en perros se analizaron los mecanismos autonómicos responsables de los cambios electrofisiológicos que favorecen la fibrilación auricular. Se estudiaron 18 animales sometidos a estimulación rápida auricular, para inducir fibrilación auricular, valorándose los efectos del SNA en las propiedades electrofisiológicas responsables de la fibrilación auricular. Las dosis de atropina administradas fueron en cantidades acumulativas de: 0,1; 0,3; 0,6; y 1 mg.kg⁻¹ durante intervalos de 10 minutos y las de propranolol de 0,1; 0,3; 0,6 mg.kg⁻¹, también durante intervalos de 10 minutos (Lu Z et al., 2008). Al bloqueo farmacológico se asoció una denervación

provocada por radiofrecuencia de los plexos ganglionares localizados en la grasa epicárdica auricular. En este protocolo los autores utilizaron las dosis descritas en otra experiencia también en el ámbito de la fibrilación auricular, pero en el que el modelo animal utilizado fueron cabras (Wijffels et al., 1997)

En el estudio original de Jose y Taylor, la determinación de la dosis de bloque autonómico se hizo en el hombre, pero la valoración de la duración del bloqueo simpático se realizó en el perro como animal de experimentación. Resulta llamativo, que si bien las dosis de propranolol empleadas fueron extrapoladas de la dosis que había utilizado en el hombre, no aplicaron el mismo criterio para el bloqueo parasimpático y la dosis de atropina fue superior y además repetida en intervalos de 15 minutos (Jose AD y Taylor RR, 1969)

Estudios realizados para la valoración de los efectos de los agentes anestésicos en diferentes contextos experimentales, han precisado de modelos animales y de la realización de un BA.

Atlee et al., analizaron los efectos en el sistema de conducción auriculo-ventricular de tres anestésicos inhalatorios: halotano, enflurano e isoflurano. Hicieron un estudio electrofisiológico con el animal consciente comparándolo con otro en el animal anestesiado, y a su vez antes y después de realizar un BA. Para llevar a cabo el BA realizaron un estudio piloto en 6 animales y utilizaron atropina $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$, repitieron una dosis de $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ cada vez que evaluaban los anestésicos, aproximadamente a intervalos de 45 minutos; para el bloqueo simpáticos utilizaron propranolol en una única dosis de $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Atlee et al., 1986)

Este mismo autor junto a sus colaboradores en 1989, en un estudio posterior evaluaron los efectos de los tres agentes inhalatorios en las propiedades electrofisiológicas relacionadas con la taquicardias supraventriculares y nuevamente en condiciones de BA. Sin embargo la pauta que utilizaron fue: atropina $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ en bolo asociado a una infusión continua de $0,25 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$, hexametonio 20 mg.kg^{-1} en bolo asociado a una infusión continua de $10 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$, y propranolol 2 mg.kg^{-1} en bolo asociado a una infusión continua de $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (Atlee et al., 1986)

En un estudio realizado en perros en los que se evaluaba los efectos de la anestesia epidural torácica en los potenciales de acción monofásica y el periodo refractario efectivo en perros conscientes, se realizó una comparación

con o sin BA. En este estudio el protocolo descrito fue el siguiente: atropina 3 mg.kg⁻¹, propranolol 2 mg.kg⁻¹, hexametonio 20 mg.kg⁻¹. (Meissner et al., 2001) Como podemos sustraer de estos estudios realizados en un modelo que utiliza el perro como animal de experimentación, los fármacos y las dosis empleadas son muy variables de unos protocolos a otros, a pesar de que el animal de experimentación es el mismo. Así mismo algunos de los trabajos combinan procedimientos quirúrgicos con fármacos para producir la denervación, con intervalos de tiempo desde la cirugía muy variables de unos animales a otros. Incluso algunos autores extrapolan las dosis utilizadas en una especie diferente. Todos estos factores hacen que para poder establecer comparaciones entre los diferentes protocolos sea difícil debido a que la sistemática de trabajo ha sido muy diversa.

Si analizamos otras especies animales, observamos como se mantiene de igual manera una gran variabilidad en el diseño del protocolo del bloqueo autonómico.

En ovejas, Hays y Webster hicieron una valoración de los efectos de la temperatura, la ingesta y la estimulación eléctrica del nervio vago y del ganglio estrellado simpático, de forma previa y posterior a la denervación autonómica. Los fármacos empleados fueron atropina en dosis de 0,05 mg.kg⁻¹ en bolo seguido de una infusión de 0,05 mg.kg.h⁻¹, y propranolol en una dosis bolo de 0,5 mg.kg⁻¹ (Hays y Webster , 1971)

En cabras Wijffels et al., en un modelo de estudio de fibrilación auricular, realizaron en un grupo de animales solo bloqueo parasimpático con atropina en dosis acumulativas de 0,1; 0,3; 0,6 y 1 mg .kg⁻¹ y en intervalos de 10 minutos antes y después de inducir fibrilación auricular. En otro grupo de animales realizaron únicamente bloqueo simpático con propranolol con un esquema similar de administración de 0,1; 0,3; 0,6 mg.kg⁻¹. Finalmente en tres animales adicionales hicieron bloqueo simpático y parasimpático de forma simultanea con la combinación de propranolol (0.2 mg.kg⁻¹) y atropina (0.2 mg.kg⁻¹) (Wijffels et al., 1997).

Nuevamente vemos como las dosis empleadas por los autores no coinciden en los diferentes modelos animales. De igual manera son escasos los estudios en los que se hace una búsqueda de la dosis eficaz, con la administración de los agentes parasimpaticolíticos y beta-bloqueantes de forma fraccionada, con un

objetivo bien definido en cuanto al efecto del fármaco en la frecuencia cardíaca del animal.

Nosotros en nuestro diseño utilizamos la metodología empleada por uno de los estudios pioneros, realizado en el hombre por Jose y Taylor, que actualmente sirve de referencia para los estudios que se llevan a cabo en humanos. Las dosis obtenidas en nuestro modelo experimental, son muy similares a las que obtuvieron en el citado estudio (Jose y Taylor, 1969). Así mismo el empleo de estos fármacos de forma conjunta, ha demostrado buena tolerancia y seguridad incluso en pacientes con patología cardíaca. De la misma forma que en nuestra experiencia, los animales se mantuvieron estables durante la realización de toda el procedimiento. Las dosis que ellos obtuvieron fueron de $0,04 \text{ mg.kg}^{-1}$ para la atropina, y de $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ para el propranolol, idéntica para la dosis de atropina de $0,04 \text{ mg.kg}^{-1}$ y ligeramente inferior a la obtenida por nosotros de $0,25 \text{ mg.kg}^{-1}$ de propranolol.

El análisis de los estudios realizados en un modelo porcino similar al nuestro, muestra una gran variabilidad. Horner et al., en un trabajo realizado en cerdos de la raza Landrace, analizaron la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) y su modificación con la distensión mecánica del nodo sinusal. En este estudio la realización de un BA, se precisaba para evaluar la influencia del SNA en la VFC. Para lograrlo, los autores realizaron una sección del nervio vago para la denervación parasimpática, y para el bloqueo beta-adrenérgico utilizaron propranolol en dosis de $40 \mu\text{g.kg}^{-1}$. A diferencia de nuestro estudio, emplearon un modelo con toracotomía y por tanto existe una mayor agresividad y manipulación del animal. Realizaron una vagotomía en lugar de utilizar atropina y finalmente la dosis de propranolol fue muy inferior a la nuestra que fue de $250 \mu\text{g/kg}$ y también a la utilizada en la mayoría de los estudios experimentales (Horner et al., 1996).

Stout et al., realizaron un trabajo acerca de la implicación del SNA en la patología denominada “commotio cordis”. Esta patología, se refiere a la situación en la que jóvenes atletas pueden presentar muerte súbita cuando reciben un impacto en el tórax, no penetrante y en ausencia de lesión de costillas, esternón y corazón. Utilizaron un modelo porcino para su estudio y establecieron como pauta de denervación la administración de atropina $0,4 \text{ mg}$ y de propranolol de 2 mg . El peso de los animales era entre 8 y 16 kg , y los

autores no encontraron relación en la ocurrencia de fibrilación ventricular, taquicardia ventricular polimórfica y alteraciones del segmento ST con el SNA. En este modelo experimental, la dosis no se ajustó al peso del animal con lo que algunos especímenes pudieron estar infra-denervados y otros sobre-denervados, así mismo no describieron la duración del experimento por tanto el efecto del beta-bloqueo pudo no ser apropiado sobre todo si trascurrieron más de 20 minutos (Stout et al., 2007).

Uno de los hallazgos de nuestro protocolo ha sido constatar la gran variación interindividual de la FCI. Esto implica que probablemente es una constante que depende estrechamente de la especie que se está evaluando y además coincide con la impresión de otros autores.

La cifra de la FCI obtenida por nosotros fue de $97,56 \pm 17$ lpm, que si bien está muy alejada de la FCI del perro en torno a 140 lpm, si es más semejante a la del hombre.

DURACIÓN DEL BLOQUEO SIMPÁTICO

La duración efectiva del bloqueo beta-adrenérgico puede realizarse con la estimulación eléctrica de las fibras simpáticas cardioaceleradoras, o con la inyección de un agente potente beta-estimulante habitualmente isoproterenol. La estimulación eléctrica de las fibras simpáticas produce un efecto que es muy similar a la administración de $2 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ de isoproterenol y esta representa una de las dosis test más ampliamente utilizada en los estudios de denervación autonómica. La duración efectiva del bloqueo beta-adrenérgico va a depender estrechamente de la intensidad del estímulo simpático empleado, por tanto, es fundamental establecer una dosis test que produzca un estímulo potente simpático en condiciones basales con el que a posteriori se puedan establecer comparaciones cuando hemos establecido un bloqueo simpático con un fármaco determinado. Así la dosis test de isoproterenol de $0,2 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ produce un incremento de la FC entre un 50-80% respecto a las cifras basales dependiendo del estudio analizado, y de las condiciones del animal de experimentación: consciente, sedación, neuroleptoanestesia o anestesia general.

Los estudios que han valorado la duración del bloqueo simpático también muestran variaciones importantes en cuanto a la metodología, empleada.

Evans et al. , para la evaluación de la eficacia del bloqueo simpático en el perro, utilizaron isoproterenol en dosis de $0,5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, y fenilefrina $40 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, definiendo la eficacia como la ausencia de respuesta de la frecuencia cardiaca a estos fármacos. Podemos suponer que la ausencia de respuesta significa 0 lpm, pero no hacen una valoración de cuanto al tiempo en el que el bloqueo simpático se mantuvo con esa intensidad (Evans et al., 1990).

Brunsting et al., en su estudio realizado en perros, comprobaron la eficacia del bloqueo simpático con la administración de $10 \mu\text{g}$ de isoproterenol, y en algunos animales con tiramina $0,25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Definieron como bloqueo eficaz la ausencia de respuesta cronotrópica, y nuevamente no presentaron datos del incremento de la FC y la respuesta al isoproterenol de forma basal ni a lo largo del estudio y además utilizaron una dosis única de $10 \mu\text{g}$ independientemente del peso del animal que oscilaba entre 21 y 32 kg (Brunsting et al., 1983). Este

mismo autor en otro estudio, también en perros, utilizó las siguientes dosis para valorar la eficacia del bloqueo simpático beta; 5 μg de isoproterenol y del bloqueo simpático alfa, fenilefrina 0,03 mg.kg^{-1} y levartenol 3 μg . En este experimento también realizado en perros, el peso de los mismos era de 21 a 45 kg. Nuevamente no parece que desde el punto de vista metodológico, una dosis no ajustada al peso del animal pueda ser utilizada como referencia. Así mismo no describieron los datos pormenorizados de la evolución en la FC con los diferentes fármacos ni la evolución del bloqueo en el tiempo (Brunsting et al., 1979).

Talajic y Nattel, realizaron la valoración de la eficacia del bloqueo simpático en cuatro animales, perros, de forma previa a la investigación objeto del estudio. Así, administraron isoproterenol, en una dosis suficiente para generar un aumento de la FC de 35 lpm en situación basal. Consideraron que el bloqueo beta adrenérgico era eficaz cuando esa misma dosis tras la administración de isoproterenol no aumentaba la FC en más de 5 lpm. Estos autores hicieron una valoración más racional, ya que de forma previa a su experimento, establecieron la dosis que precisaban para el BA. Sus resultados coinciden con los datos obtenidos en nuestro modelo de estudio, así, consideran eficacia del bloqueo cuando la administración de isoproterenol tras el propranolol produce un incremento menor del 14% en relación a la respuesta que tenían de forma basal. Nosotros al finalizar el bloqueo autonómico el incremento de la FC con el isoproterenol fue del 15%. (Talajic y Nattel, 1986). Tabla 14.

Jose y Taylor, valoraron la duración del bloqueo simpático en 6 perros anestesiados con pentobarbital a los que se realizó toracotomía. Como estímulo simpático, realizaron la estimulación del ganglio estrellado durante 10 s con pulsos de 0,2 ms, con una intensidad de 20 Hz, e inyección de isoproterenol 0,4 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Valoraron la respuesta en la frecuencia cardíaca y en la contracción miocárdica (CM) medida con el dispositivo "Walton-Brodie", que mide la presión en el ventrículo derecho. Antes de la administración de propranolol el isoproterenol produjo un aumento de la FC de 46 lpm, y de la CM del 110%. A los 10 minutos observaron una cierta recuperación, menor del 5% en la FC y > del 10% en CM. A los 60 minutos esta recuperación alcanzaba el 10% de la respuesta basal en la FC y del 30% en la CM (Jose y Taylor, 1969).

Nuestra metodología de valoración ha sido similar, administrando la misma dosis de isoproterenol y realizando una valoración desde el minuto siguiente a la finalización del BA, y cada 20 minutos desde la denervación. Existen diferencias importantes entre nuestros hallazgos y los suyos que conviene analizar. En primer lugar en nuestro modelo la respuesta a la estimulación basal con la misma dosis de isoproterenol ha sido mucho más intensa que la suya, la media de aumento en lpm ha sido de casi 80 ± 15 lpm frente a 46 lpm. Al finalizar el bloqueo nosotros tuvimos una respuesta de 12 ± 6 lpm frente a < de 1 lpm según refieren los autores, que señalan que fue menor del 1%. Las posibles justificaciones a estas diferencias residen en que, por un lado ellos no determinaron la FCI en el perro, extrapolaron los datos de su estudio en humanos. La dosis de atropina fue de $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ con repetición cada 15 minutos y finalmente el protocolo anestésico de su trabajo fue con pentobarbital frente a propofol. Concluyeron en su estudio que con las dosis de propranolol empleadas se consigue un bloqueo simpático casi completo durante un periodo de al menos 10-20 minutos. Este bloqueo será suficiente para bloquear los estímulos adrenérgicos que suceden en condiciones clínicas habituales, ya que la dosis test utilizada produce un estímulo simpático intenso que evoca casi una respuesta máxima inotrópica en el corazón.

Atlee et al., en su estudio de la valoración de los efectos de los anestésicos inhalatorios en el sistema de conducción cardiaco, de forma previa evaluaron la eficacia del BA. En 6 animales no anestesiados, analizaron el bloqueo simpático con la respuesta a una dosis de isoproterenol de $1 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$. Los autores reportaron la evolución de la FC desde la respuesta en situación basal que aumentó 152 ± 13 lpm, a la respuesta a los 60 minutos que fue de 30 ± 9 lpm (20% respecto a la respuesta basal) y a los 120 minutos que fue de 50 ± 5 lpm (33% con respecto a los datos basales) (Atlee et al. 1986). Estos resultados contrastan con los que hemos mostrado en nuestro estudio, en el que al finalizar el BA, la respuesta a la dosis de isoproterenol fue del 12% en relación a la respuesta control, y a los 20 minutos esta respuesta alcanzó cifras del 29%. Si bien la dosis de propranolol utilizada por nosotros fue menor, de $0,25 \text{ mg. kg}^{-1}$, frente a $0,5 \text{ mg. kg}^{-1}$ que utilizaron ellos, es llamativo que a las dos horas la respuesta al isoproterenol fue del 33% casi similar al 29% de

recuperación tan sólo a los 20 minutos del BA en nuestro estudio. Aun más, nosotros evaluamos el bloqueo simpático con una dosis de isoproterenol inferior a la suya de $0,4 \mu\text{g. kg}^{-1}$, y en condiciones de anestesia general frente a una situación consciente. A pesar de ser una especie animal diferente, los resultados de nuestro trabajo coinciden con los de Jose y Taylor también realizado en un modelo animal canino (Jose y Taylor, 1969).

Hays y Webster en su experiencia realizada en ovejas, comprobaron en cinco animales, la eficacia del bloqueo simpático bien realizando estimulación del ganglio estrellado o con la administración de isoproterenol $0,2 \mu\text{g. kg}^{-1}$. Con ambos estímulos el incremento en la FC fue similar con una media de 120 lpm. Reportaron que la duración del bloqueo fue efectiva hasta al menos dos horas, observando que a las dos horas todavía estaba bloqueada la respuesta de la FC hasta un 87% respecto a los datos basales, y que a las 3 horas este bloqueo era del 65%. Los datos de este estudio contrastan con nuestros resultados en los que a los 20 minutos del bloqueo el porcentaje de bloqueo era del 71%. Existen algunas diferencias entre ambos modelos, que pueden justificarlas. Nosotros hemos realizado la estimulación con el doble de dosis de isoproterenol y la dosis de propranolol ha sido inferior, de $0,25 \text{ mg. kg}^{-1}$ frente a $0,5 \text{ mg. kg}^{-1}$ que utilizaron ellos. Finalmente estamos considerando dos especies diferentes: ovejas vs. cerdos, dos protocolos anestésicos distintos, pentobarbital vs. propofol, y la extensión del procedimiento con una media de 141 ± 44 minutos en nuestro estudio frente a 8-10 h de duración en algunos de sus experimentos (Hays y Webster, 1971).

En relación a estudios realizados en el mismo modelo animal que nosotros, Horner et al., utilizaron para valorar la eficacia del bloqueo simpático un bolo de isoproterenol de $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Consideraron un bloqueo efectivo la atenuación en más del 80% la respuesta en la FC de forma basal (Horner et al., 1996). Aunque en el trabajo no se muestran los datos relacionados con la denervación. Nosotros con una dosis de propranolol casi 6 veces superior a la de ellos obtuvimos una atenuación de la respuesta al isoproterenol muy similar del 85%. Debemos señalar que nuestra dosis test fue inferior, de $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Es difícil justificar las diferencias entre ambos estudios pero debido a que los autores no aportan más datos acerca de su modelo de denervación no

podemos establecer más conclusiones. En nuestro proyecto la respuesta al isoproterenol ha sido evaluada en 11 animales hasta los 20 minutos del bloqueo y se hicieron hasta 12 valoraciones más considerando conjuntamente las realizadas a los 40 y 60 minutos. Creemos por tanto que podemos concluir de una forma más consistente la seguridad en la dosis empleada de propranolol y lo que es aún más importante, la duración del bloqueo simpático.

DURACIÓN DEL BLOQUEO PARASIMPÁTICO

La valoración del bloqueo parasimpático realizada por la mayoría de los autores consiste o bien en una estimulación eléctrica del nervio vago, con unos parámetros de estimulación determinados que evocan una disminución en la FC, o una pausa sinusal habitualmente entre 2 y 3 s, o mediante fármacos agonistas colinérgicos que inducen la misma respuesta.

El análisis de la valoración parasimpática también muestra importantes variaciones metodológicas en los diferentes estudios que abordan este tópico. Hay que señalar que disponemos de menos modelos que hayan valorado la eficacia del bloqueo autonómico parasimpático y aun menos de su duración.

Evans et al. , para la valoración de la eficacia del bloqueo ganglionar administraron nitroglicerina 16 $\mu\text{g/kg}$ en bolo para analizar el bloqueo nicotínico, y fenilefrina 40 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ para el bloqueo muscarínico. Nuevamente definieron la eficacia como la ausencia de respuesta de la frecuencia cardiaca a estos fármacos. Podemos suponer al igual que en la valoración del sistema nervios simpático, que la ausencia de respuesta significa 0 lpm, pero no aportan datos de su monitorización a lo largo del tiempo para determinar la duración del bloqueo parasimpático. Así mismo no refirieron cuantos animales fueron valorados para establecer sus conclusiones (Evans et al., 1990).

En el estudio de Brunsting et al., el bloqueo muscarínico se valoró con la inhibición de la bradicardia producida por la administración de 1 mg.kg^{-1} de acetilcolina y el bloqueo ganglionar lo evaluaron administrando 0,25 mg.kg^{-1} de nicotina (Brunsting et al., 1983). En otro estudio realizado por el mismo autor, el bloqueo muscarínico lo valoraron comprobando la inhibición de la bradicardia producida por la administración de 0,5 mg.kg^{-1} de acetilcolina y el bloqueo ganglionar con 0,25 mg.kg^{-1} de nicotina. Las dosis utilizadas por este autor están en el rango de las que hemos utilizado nosotros con una media de casi 1 mg/kg de acetilcolina. Sin embargo en sus estudios no reportaron los intervalos de tiempo en los que se valoró el bloqueo parasimpático lo cual no nos permite hacer comparaciones (Brunsting et al., 1979).

Talajic y Nattel, para valorar la eficacia del bloqueo muscarínico, estudiaron cuatro perros, en los que de forma basal realizaban una estimulación bilateral vagal bipolar con pulsos de 0,2 ms, con una intensidad de 20 Hz, suficientes

para inducir una pausa sinusal de 3 s. En dicho estudio mostraron que la duración del bloqueo inducido por atropina fue de varias horas, si bien los mismos autores reportaron una duración de 2 horas en un estudio similar (Talajic y Nattel, 1986; Nayeypour et al., 1992). En dicho estudio no se mostró la secuencia temporal del bloqueo parasimpático, es decir con que frecuencia durante esas dos horas fue evaluado, y si observaron a partir de un tiempo, signos de recuperación del bloqueo parasimpático como en nuestro estudio, que se empezó a manifestar en algunos animales a los 107 minutos de la administración de atropina.

Sus resultados son semejantes a los nuestros en cuanto a la duración del bloqueo parasimpático, que fue de 129 minutos de media en nuestro estudio, si bien incluso algún animal no presentó signos de recuperación incluso hasta los 240 minutos. Existen algunas diferencias entre ambos protocolos ya que nosotros definimos una pausa de 2-3 segundos y ellos de 3 segundos. Además ellos administraron una dosis única de atropina de 1 mg, pero lamentablemente no refieren el peso de los animales, así que no podemos establecer comparaciones.

En el estudio de Jose y Taylor, en perros, se valoró la duración del bloqueo simpático, es llamativo que no se realizara un análisis del bloqueo parasimpático y que se administrara una dosis fija de atropina de $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ cada 15 minutos (Jose y Taylor, 1969).

Atlee et al., en su estudio en perros de la valoración de los efectos de los anestésicos inhalatorios en el sistema de conducción cardiaco, de forma previa estudiaron la eficacia del BA. En 6 animales no anestesiados, analizaron el bloqueo parasimpático con la respuesta a una dosis de acetilcolina de $10 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$. En su investigación no reflejan el efecto de la dosis test de acetilcolina en situación basal, que es muy inferior a la que utilizamos nosotros de casi 1 mg/kg (Atlee et al., 1986). Este aspecto nos parece relevante ya que en cada animal la dosis de acetilcolina que producía la pausa sinusal fue muy variable con un rango de $0,33\text{-}3 \text{ mg/kg}$. Probablemente esto se relacionó con la situación basal autonómica del animal.

En el estudio de Hays y Webster, en ovejas, comprobaron la eficacia del bloqueo parasimpático comparando la respuesta en la FC con la estimulación nerviosa de los nervios vagos con un impulso de 14 V y de 20 pulsos/s (Hz),

antes y después de la administración de $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ de atropina. En situación basal la estimulación del nervio vago derecho e izquierdo, produjo una disminución de la FC hasta 20 y 40 lpm respectivamente. Cuando se administró atropina se redujo esta disminución a 10 lpm. Sin embargo constataron que en un animal, para conseguir el mismo grado de inhibición de la estimulación vagal, la dosis de atropina necesaria fue de $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$. Además los autores observaron que la respuesta de inhibición de la atropina solo se mantuvo durante 15 minutos. Transcurrido ese intervalo de tiempo, la estimulación del nervio vago derecho a los 20 minutos redujo la FC hasta 70 lpm. Sin embargo no muestran los datos de la FC en los diferentes tiempos de estudio, previo al bloqueo parasimpático, y en los momentos en los que se evaluó tras la administra atropina, así como tampoco refieren el número de animales que se estudiaron (Hays y Webster, 1971). Es llamativa la discordancia entre los resultados de estos autores con nuestro estudio y con el que reflejan otros investigadores que han valorado la duración del bloqueo parasimpático. Con dosis de atropina similares, nuestro trabajo ha mostrado una duración de alrededor de dos horas, y no de 15 minutos como reportan ellos. Las diferencias en la metodología, especie animal y la definición del estímulo parasimpático que ellos refieren con cifras de FC y en nuestro caso como el desencadenamiento de una pausa sinusal mayor de 2 segundos, pueden ser la justificación de las discrepancias halladas.

En relación a los animales que presentaron fibrilación ventricular durante el estudio del bloqueo parasimpático, probablemente fue como consecuencia de un espasmo coronario intenso, con isquemia y desarrollo de fibrilación ventricular. La utilización de la acetilcolina intracoronaria está establecida en algunas situaciones clínicas de angina vasoespástica. Así algunas de las indicaciones reconocidas son en pacientes con clínica sugestiva y que no han podido ser diagnosticados con métodos no invasivos, y también en los casos en los que el tratamiento es ineficaz o insuficiente. (JCS Joint Working Group, 2010; Yasue et al., 1986). También se ha utilizado en pacientes con síndrome de Brugada para valorar si son sensibles a la isquemia inducida por estimulación vagal. En un estudio realizado en 27 pacientes con esta patología la administración de acetilcolina en la coronaria derecha provocó en un 9% de las inyecciones fibrilación ventricular (Noda et al., 2002)

La acetilcolina cuando se inyecta directamente en el árbol coronario, produce un desequilibrio entre un efecto vasodilatador mediado por la liberación de un “factor relajador dependiente del endotelio” (endothelium-dependent relaxing factor”) y el efecto vasoconstrictor por su acción muscarínica directa en el músculo liso vascular (Yasue et al., 1986). Las dosis utilizadas durante la coronariografía son desde 20, 50, o 100 µg de acetilcolina diluida en 5 ml de suero salino y a 37°C, la dosis además varía si se está explorando la arteria coronaria izquierda o la derecha, en este último caso la dosis es menor (JCS Joint Working Group, 2010). Nuestras dosis han sido mucho mayores y aunque la degradación sistémica es importante, probablemente fue suficiente para provocar un espasmo coronario en los animales que presentaron FV. Hay que señalar que en estos animales la dosis de acetilcolina que se administró fue la que estaba en el rango superior.

IMPLIACIONES CLÍNICAS Y ANESTÉSICAS

El sistema nervioso autónomo como ya se ha referido en el inicio de esta tesis, consiste en dos subsistemas contrapuestos: el SNS y el SNP. La interacción de ambos es esencial para el mantenimiento de una homeostasis eficiente del sistema cardiovascular. Si dicha interacción falla y se produce una hiperactividad simpática, se pueden producir arritmias muy graves que pueden amenazar la vida del paciente, de igual manera está establecido que cuando hay una hiperactividad del tono vagal esta ejerce un efecto protector y antifibrilatorio (Zhong et al., 2006). Varias enfermedades como el infarto agudo de miocardio, la insuficiencia cardíaca congestiva y las arritmias presentan signos que sugieren que el SNA está afectado. En otras patologías no cardíacas muy dispares también existe afectación o anomalías en la regulación del SNA como la diabetes, accidente cerebrovascular agudo, trastornos de pánico, obesidad, síndrome de apnea obstructiva del sueño, lesión medular aguda, síndrome de fatiga crónica entre otras.

En algunos supuestos clínicos el corazón está totalmente denervado como en el trasplante cardíaco, y en otros, se puede considerar como una denervación parcial: los tratamientos crónicos con fármacos que producen depleción de las reservas de catecolaminas (agentes antipsicóticos, antidepresivos, inhibidores de la recaptación de serotonina) o pacientes en tratamiento con fármacos betabloqueantes (Goldstein et al., 2002; Cerutti et al., 1987)

No es infrecuente que durante la práctica anestésica nos encontremos con pacientes que presentan como comorbilidad asociada a su procedimiento quirúrgico, algunas de estas enfermedades descritas. De igual manera el SNA puede verse alterado por los efectos de los fármacos concomitantes, de agentes tóxicos, alcohol, y sustancias de abuso que pueden estar presentes en la anestesia de urgencia y de los pacientes con traumatismos. Se ha mostrado que la cirugía en pacientes ancianos produce alteración de la función autonómica (Zhang et al., 2011). Destacar que gran parte de los agentes anestésicos que utilizamos en la práctica clínica diaria ejercen acciones intensas en el SNA que pueden sumarse a la situación previa del paciente.

La información obtenida por los estudios encaminados a profundizar en el comportamiento del corazón cuando se ha eliminado el control neural normal,

bien como consecuencia de una situación patológica, farmacológica o quirúrgica, son esenciales para mejorar nuestro conocimiento e incluso avanzar en las diferentes opciones terapéuticas que finalmente ofreceremos a nuestros pacientes (Kriatselis et al., 2001; Sundaram et al., 2008; Kannankeril et al., 2002)

La seguridad de las dosis de bloqueo utilizadas en nuestro estudio fue demostrada por Jose y Taylor en un subgrupo de 10 pacientes sometidos a cateterización cardiaca. Así administraron una dosis adicional de propranolol de 0,2 mg/kg tras realizar el bloqueo autonómico y no observaron ningún efecto adicional en la FC, gasto cardiaco ni en las presiones intracavitarias. Estos autores ya mostraron que la determinación de la FCI es un método simple, seguro, y rápido en la práctica clínica. Permite la valoración de la función miocárdica en el hombre, y su realización en modelos animales permite profundizar en la naturaleza de algunas de las anomalías descritas en el humano. La necesidad de modelos animales se justifica porque algunos de los procedimientos experimentales no sería ético realizarlos en pacientes.

El modelo animal utilizado por nosotros, el cerdo, es considerado como uno de los principales mamíferos para la investigación relacionada con el sistema cardiovascular. El corazón del cerdo, presenta similitudes con el corazón del hombre, y muchos trabajos realizados en modelos porcinos, en comparación con el corazón humano han mostrado resultados muy similares.

Limitaciones

En este modelo no podemos descartar la influencia en nuestros resultados de los reflejos hemodinámicos desencadenados por los diferentes fármacos, y la influencia de otros mediadores neurohormonales. Sin embargo los datos de nuestros estudios han mostrado estabilidad en las variables fisiológicas de los animales corroborando el mantenimiento de la homeostasis del animal.

De igual manera debemos considerar que no podemos hacer una extrapolación de los resultados de los estudios experimentales al hombre, aunque en este caso los resultados son prácticamente idénticos a los reportados previamente en humanos.

4.2. ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO DEL REMIFENTANILO EN CONDICIONES DE BLOQUEO AUTONÓMICO

El propósito de este estudio experimental controlado y prospectivo fue investigar los efectos del remifentanilo en el sistema de conducción cardíaco, en condiciones de bloqueo autonómico. El principal resultado obtenido fue que el remifentanilo en dosis de 0,5 µg/kg/min, rango similar al utilizado en la práctica clínica habitual, no afectó los parámetros principales de la función sinusal como el tiempo de conducción sinoatrial y el tiempo de recuperación del nodo sinusal. Del mismo modo, su administración no alteró la conducción del nodo aurículo-ventricular ni alargó significativamente el intervalo AH, el punto de Wenckebach ni prolongó la refractariedad nodal. Finalmente el remifentanilo prolongó el periodo refractario ventricular y el intervalo QT, fenómeno que sin embargo no fue observado en su corrección por la frecuencia cardíaca al determinar el intervalo QTc.

4.2.1. REMIFENTANILO Y FUNCIÓN DEL NODO SINUSAL

La estimulación rápida auricular seguida de la evaluación del tiempo de recuperación del nodo sinusal y la determinación del tiempo de conducción sinoatrial, permiten estudiar de una forma detallada el automatismo del nodo sinusal (Steinbeck & Lüderitz, 1975). En nuestro estudio, la valoración electrofisiológica de la función sinusal demostró que la administración de remifentanilo en condiciones de bloqueo autonómico produjo una prolongación leve del 7%, pero estadísticamente significativa de la LCS, es decir una disminución de la frecuencia cardíaca. En relación al TRNS, también lo prolongó levemente con la misma magnitud del 7%, aunque no alcanzó significación estadística. Sin embargo cuando este parámetro se corrigió para la frecuencia cardíaca, no se modificó con la administración de remifentanilo. La conducción sinoauricular, evaluada mediante el TCSA no se modificó con la administración de remifentanilo. Estos resultados contrastan con los observados en un estudio previo de nuestro equipo, en los que la administración de remifentanilo asociada a sevoflurano demostró una prolongación estadísticamente significativa y de mayor magnitud todos los parámetros que evalúan la función sinusal: la LCS, TRNS, TRCNS y el TCSA, Tabla 25. (Narciso et al., 2014).

Como quiera que en la investigación realizada el anestésico concomitante administrado fue el sevoflurano, es pertinente analizar los estudios que han evaluado sus acciones en la función eléctrica del corazón. En la práctica clínica no se ha relacionado a la administración de sevoflurano utilizado de forma aislada con la aparición de bradiarritmias (Ebert, 1996). Incluso en situaciones quirúrgicas asociadas con un estímulo vagal intenso, como la cirugía de estrabismo en el paciente pediátrico. Así, Allison et al. compararon la proporción de desencadenamiento del reflejo oculocardíaco (definido como una disminución de la frecuencia cardíaca superior al 20% con respecto al valor basal, la aparición de arritmias, o de parada sinusal con la tracción de los músculos oculares) del sevoflurano frente al halotano en 51 pacientes pediátricos. El estudio mostró que la incidencia de arritmias fue superior con el halotano con respecto al sevoflurano (42% vs.4%) (Allison et al., 2000).

En un estudio realizado en humanos, Sharpe et al. comprobaron que la administración de sevoflurano al 2% (1 MAC) en pacientes previamente anestesiados con midazolam, vecuronio y alfentanilo, no modificó los parámetros de la función sinusal con excepción del TCSA que disminuyó un 18% con respecto al valor basal (Sharpe et al., 1999).

En humanos se han constatado los efectos depresores del remifentanilo en la función sinusal (Fattorini et al., 2003; Niksch et al., 2010; Fujii et al., 2011). Así, Fattorini et al., realizaron un estudio electrofisiológico transesofágico en pacientes sanos en el que compararon los parámetros de la función sinusal durante la fase de estado de vigilia, con los obtenidos tras la anestesia con propofol y remifentanilo en dosis de 1µg/kg seguido por una infusión de 0,25 µg/kg/min. Tanto la LCS como los TRNS se alargaron. Así el TRCNS se prolongó un 24%. Estos valores, en el mencionado trabajo, recuperaron las cifras basales tras la administración de atropina. No se reportó el valor del TCSA. Conforme a sus hallazgos, Fattorini sugiere que la acción del remifentanilo no es directa sobre la función sinusal, sino que está mediada vagalmente. No obstante, el estudio de Fattorini solo contempla una parte de la totalidad de las medidas que nosotros hemos realizado en nuestro modelo experimental. Así mismo Fattorini, no realizó un bloqueo del sistema nervioso autónomo completo, ya que sólo eliminó el componente parasimpático, sin actuar sobre el componente simpático. Finalmente, otra diferencia notable es que el estudio de Fattorini compara los resultados electrofisiológicos en estado de vigilia con los obtenidos bajo la condición de anestesia, durante la cual, la supresión de la ansiedad puede provocar un descenso del influjo simpático que pudo afectar a los resultados.

Zaballos et al. estudiaron los efectos del remifentanilo en 18 cerdos bajo anestesia con hipnosis inducida con propofol. Los resultados mostraron un incremento significativo sobre el valor basal de la LCS (21%), del TCSA (40%), y del TRCNS (136%) (Zaballos et al., 2009). Años más tarde el mismo grupo evaluó los efectos del remifentanilo sustituyendo el hipnótico propofol por sevoflurano (Del Blanco et al., 2012). Los autores analizaron las acciones del remifentanilo en un modelo experimental similar, bajo anestesia con sevoflurano. Se estudiaron a 18 animales, a los que se realizó un estudio electrofisiológico completo en condiciones basales (anestesia bajo sevoflurano,

1 CAM) y se comparó con el estudio realizado bajo la administración de remifentanilo (bolo de 1 $\mu\text{g/kg}$ seguido de una infusión de 0,5 $\mu\text{g/kg/min}$) de forma secuencial en cada animal. Los resultados objetivaron una prolongación significativa sobre los parámetros basales de la LCS (20%), del TCSA (45%) y del TRCNS (162%).

Niksch et al., analizaron los efectos del remifentanilo en el sistema de conducción cardíaco en 15 pacientes pediátricos con taquicardia supraventricular a los que se les iba a someter a ablación con radiofrecuencia. Cada paciente recibió de forma aleatorizada dos protocolos anestésicos, administrados de forma secuencial, en uno de ellos se utilizaba únicamente propofol, y en el otro protocolo una asociación de propofol y remifentanilo, este en dosis de 0,3 $\mu\text{g/kg/min}$. Todos los sujetos recibieron durante 20 minutos cada uno de los protocolos con un intervalo de 20 minutos de lavado entre ambos. Los hallazgos principales fueron que en los estudios realizados con remifentanilo y propofol se observó una prolongación significativa, en torno al 11%, de la LCS sin modificarse el TRCNS, sin embargo los autores no evaluaron el TCSA. Los efectos modestos del remifentanilo en el ciclo sinusal y la ausencia de modificación en el TRCNS que los autores reportaron, pueden ser justificados debido a la dosis utilizada, inferior a la empleada en nuestras investigaciones, y a las diferencias posibles entre los resultados de los estudios en humanos frente a los estudios en modelos experimentales (Niksch et al., 2010).

Fujii et al., estudiaron los efectos electrofisiológicos de dos dosis de remifentanilo en 46 pacientes pediátricos con síndrome de WPW sometidos a ablación con radiofrecuencia y anestesiados con propofol y remifentanilo. Aleatorizaron a los pacientes en dos grupos, en uno de ellos administraron dosis moderadas de remifentanilo de 0,2 $\mu\text{g/kg/min}$, y el otro grupo recibió una dosis superior de 0,4 $\mu\text{g/kg/min}$. Compararon los efectos de ambas dosis en la función sinusal y observaron que las dosis elevadas producían un enlentecimiento de la frecuencia cardíaca con un incremento en el ciclo sinusal aproximadamente del 29%, un aumento del TRCNS del 52% así como un incremento del 62% en el TCSA (Fujii et al., 2011). Estos hallazgos son coincidentes con los encontrados por Zaballos et al. y Del Blanco et al. cuando

se evaluó el remifentanilo tanto con propofol como con sevoflurano sin bloqueo autonómico. Sin embargo en nuestra investigación no se reprodujeron al realizar el estudio bajo bloqueo autonómico (Zaballos et al., 2009 y Del Blanco et al. 2012)

Es interesante señalar que en el estudio de Del Blanco et al., se incluyó un grupo control de 5 animales para descartar la influencia del tiempo de duración de la experiencia, dado el diseño secuencial del estudio, administrándose suero salino en lugar de remifentanilo. Sus resultados fueron una ausencia de cambios en los parámetros de función sinusal (Del Blanco et al. 2012). En el presente estudio así mismo se incluyó un grupo control, de 4 animales, bajo los efectos del bloqueo autonómico, y sustituyendo así mismo el remifentanilo por suero salino. Los resultados fueron prácticamente coincidentes a los obtenidos con remifentanilo (exceptuando el mínimo efecto en la LCS), no se observaron cambios en la función sinusal.

Como se ha mencionado previamente, Fattorini sugiere que la acción del remifentanilo no es directa sobre la función sinusal, sino que está mediada vagalmente. La comprobación de tal hipótesis es el objeto de la presente tesis, para lo cual se debe conseguir un corazón denervado, farmacológicamente en este caso. En nuestro estudio, la administración de remifentanilo en condiciones de bloqueo autonómico no se siguió de alteraciones significativas en el TRCNS ni en el TCSA, apoyando tal hipótesis. Sin embargo sí se produjo una leve prolongación estadísticamente significativa de la LCS del 7%, y del TRNS no significativa, sobre el valor basal tras la administración de remifentanilo bajo bloqueo autónomo. Incremento carente de relevancia clínica, especialmente si comparamos este valor con los incrementos demostrados sin el bloqueo del sistema nervioso autónomo. Este resultado, contrasta con el aumento del 20% de los estudios previos al realizarse el mismo experimento sin bloqueo autónomo (Del Blanco et al., 2012). Esta prolongación de la LCS podría deberse a una infradosificación del componente anticolinérgico del bloqueo autónomo, sin embargo el estudio de duración del bloqueo parasimpático, de la parte inicial de esta tesis mostró un bloqueo efectivo y sin indicios de recuperación hasta 107 minutos por lo que pensamos que esto no pudo ser la causa. Por otro lado, las dosis repetidas de propranolol de forma más frecuente que la atropina podrían haber producido una sobredosificación

del bloqueo simpático manifestada a lo largo del experimento debido a su duración.

En este sentido sabemos que el nódulo sinusal está profusamente innervado por fibras postganglionares adrenérgicas y colinérgicas. La concentración de acetilcolina y sus precursores se encuentran en concentraciones superiores en la región del nodo sinusal, seguido de la aurícula derecha y finalmente de la aurícula izquierda (Zipes, 1997). La estimulación vagal enlentece la descarga sinusal. Los efectos cronotrópicos negativos de la acetilcolina se deben fundamentalmente a la inhibición de la corriente marcapaso I_f o “funny current”. La acetilcolina activa también los receptores muscarínicos m_2 de las células marcapaso mediante la activación del canal de K sensible a la acetilcolina ($I_{K,Ach}$), que modulan a su vez la frecuencia de descarga. Así mismo, los receptores m_2 a través de la adenilato ciclasa antagonizan también los efectos adrenérgicos en el nodo sinusal. Se ha evidenciado que, dosis bajas de acetilcolina inhiben la corriente I_f , en cambio para activar la $I_{K,Ach}$ se precisa una concentración 20 veces mayor de acetilcolina (DiFrancesco, 2010). Existe evidencia de que el control autonómico del cronotropismo está mediado por la modulación de la corriente I_f y que además se modifica con concentraciones bajas/moderadas de agonistas. Desconocemos, si existe una influencia directa del remifentanilo sobre esta corriente iónica cardíaca, como la ivabradina, bloqueante selectivo de la I_f . En nuestro conocimiento ningún estudio ha investigado si el remifentanilo actúa sobre dicha corriente.

Otros autores como Kojima et al., con el objetivo de evaluar los efectos directos del remifentanilo y fentanilo en la actividad marcapaso del nodo sinusal, realizaron un estudio en una preparación aislada de nódulo sinusal mediante técnica de voltaje fijo, y en un modelo de corazón perfundido con solución de Langendorff, de corazón de cobayas. Estudiaron los efectos de concentraciones crecientes de remifentanilo y fentanilo desde 5, 10, 100 y 1000 nM. Los autores observaron que la frecuencia espontánea del nódulo sinusal descendió significativamente aunque de forma leve, desde 187,5 lpm en situación basal hasta 167,1 lpm con la dosis máxima de remifentanilo de 1000 nM. Además tras el lavado del fármaco se recuperaron los valores basales.

También con esta dosis se observó una disminución en la pendiente de despolarización diastólica (despolarización marcapaso, que se considera el parámetro principal responsable de la frecuencia espontánea sinusal). En la preparación de corazón perfundido con solución de Langendorff, la concentración de remifentanilo de 1000 nM también disminuyó significativamente la frecuencia cardíaca. Los autores concluyen que en concentraciones clínicas relevantes los efectos de bradicardia acaecidos con la administración de remifentanilo no pueden atribuirse a una acción directa del fármaco. Sin embargo en dosis elevadas especulan que el remifentanilo pudiera actuar en las corrientes de membrana I_f o en corrientes de calcio tipo L (I_{CaL}) o tipo T (I_{CaT}). Hay que señalar que las concentraciones elevadas de remifentanilo de este estudio de 1000 nM, corresponderían a unas concentraciones de 420 ng/mL; y las administradas por nosotros de 0,5 µg/kg/min, corresponderían a unas concentraciones de 12,6 ng/mL. Así mismo señalan la necesidad de evaluar las acciones del remifentanilo en relación a la actividad del sistema nervioso autónomo (Kojima et al., 2013).

Nosotros creemos sin embargo, que el conjunto de los hallazgos de la presente tesis sugieren intensamente que las acciones descritas previamente del remifentanilo en la función sinusal, están mediadas por una activación del sistema nervioso autónomo, aunque no podemos descartar un mínimo efecto en la función sinusal que pueda ser debido a una acción directa del fármaco.

4.2.2. REMIFENTANILO Y FUNCIÓN DEL NODO AV

En nuestro modelo experimental el remifentanilo en condiciones de bloqueo autonómico no produjo cambios significativos en la conducción del nodo AV ni tampoco en la refractariedad del mismo. Sin embargo es interesante analizar en profundidad los resultados obtenidos. En cuanto al intervalo AH observamos que este parámetro se incrementó, aunque en el límite de la significación estadística, desde un valor de 86 ± 12 ms en situación basal hasta 103 ± 15 ms tras el remifentanilo, $p = 0,05$. Estos hallazgos si los comparamos con los resultados obtenidos en el estudio previo sin bloqueo autonómico, muestran sorprendentemente que el incremento en el intervalo AH fue de la misma magnitud (22%) que el que se obtuvo en el estudio previo. (Narciso et al., 2014), Tabla 25. Afortunadamente en el diseño de la presente tesis se planificó un grupo control, en el que sustituimos el remifentanilo por suero salino, para descartar un efecto debido al tiempo de estudio y/o la manipulación del animal que pudiera haber influido en nuestros resultados. El grupo control no manifestó ningún efecto en este intervalo, Tabla 29. Estos datos sugieren un posible efecto directo del remifentanilo independiente del influjo autonómico en el nodo AV. La corriente de calcio I_{CaL} es una de las responsables de la propagación del impulso en el nodo AV, y los fármacos antagonistas del calcio como el verapamilo y el diltiazem disminuyen la conducción en el nodo AV. En relación al remifentanilo, estudios realizados in vitro en arterias mesentéricas humanas y en preparación de aorta torácica de rata mostraron que produce vasodilatación mediada por supresión de los canales de calcio a nivel del endotelio vascular. Si bien una limitación de estos estudios es que no evaluaron si el remifentanilo actuaba en los canales de Ca cardiacos, no se puede descartar que posea una acción a este nivel. (Hu et al., 2008; Unlügenç et al., 2003). De igual manera, la longitud del ciclo de Wenckebach nodal se alargó con la administración de remifentanilo aunque tampoco alcanzó significación estadística. Al analizar el incremento producido, este fue un 50% inferior al que ocurrió en los animales sin bloqueo autonómico del mencionado estudio de Narciso et al., (7% con bloqueo autonómico vs. 14% sin bloqueo autonómico; Tabla 25) (Narciso et al., 2014). El periodo refractario del nodo AV no presentó cambios significativos durante la infusión de remifentanilo,

resultado que por otro lado debería haberse modificado en una línea semejante a los parámetros previos, ya que también está muy influenciado por el tono autonómico.

Al igual que las consideraciones que hemos realizado con los resultados en la función sinusal, debemos considerar si la asociación con el anestésico de mantenimiento y los agentes antagonistas de los sistemas simpático y parasimpático utilizados de forma concomitante pudieron influenciar nuestros resultados.

En relación al agente anestésico de mantenimiento en nuestro modelo, el sevoflurano, en un estudio realizado en humanos, mostró que su administración en concentración al 2% (1 MAC), en pacientes previamente anestesiados con midazolam, vecuronio y alfentanilo, no se asoció con modificación de los parámetros de la función nodal (Sharpe et al., 1999).

Los efectos en los parámetros electrofisiológicos del sevoflurano frente al propofol fueron evaluados en 15 niños con síndrome de WPW. El estudio no constató efectos en el intervalo AH del sevoflurano en comparación con el propofol (Rodríguez-Pérez et al, 2008).

El sevoflurano no afectó la conducción aurículo-ventricular en un estudio realizado en perros hasta concentraciones de 2 CAM. (Nakaigawa et al., 1995). En una preparación de corazón aislado de cobaya (Langendorff), el sevoflurano no prolongó la conducción AV en comparación con el isoflurano. (Graf et al., 1995).

Sin embargo, existen comunicaciones clínicas aisladas de la asociación de sevoflurano con la aparición de ritmos nodales, especialmente en el paciente pediátrico durante la inducción anestésica con dosis elevadas de hasta el 8% (Kundra et al., 2011; Green et al., 2000). Estos hallazgos nuevamente sugieren que, en general, el sevoflurano carece de acción importante en la función nodal, ya que en las observaciones clínicas descritas, otros factores contribuyentes pudieron facilitar la aparición de ritmos nodales, como el uso de dosis muy elevadas de este agente, enfermedades cardiovasculares asociadas y la presencia de estímulos añadidos como la intubación o determinados actos quirúrgicos con intenso estímulo vagal.

Fattorini et al., encontraron que el 17,5% de los pacientes evaluados, presentaron bloqueo de Wenckebach con los ciclos de estimulación

inferiores a 140 latidos/minuto con la administración de remifentanilo. Este efecto se normalizó después de la administración de atropina, de manera que el bloqueo de Wenckebach tuvo lugar sólo durante los ciclos de estimulación auricular superiores a 140 latidos/minuto. Estos autores no midieron ni el intervalo AH, ni el PRNAV, dadas las anteriormente mencionadas limitaciones de los estudios electrofisiológicos con la metodología de estimulación transesofágica (Fattorini et al, 2003). Estos resultados nuevamente sugieren que el remifentanilo actúa específicamente por un mecanismo modulador del sistema nervioso autónomo.

Niksch et al., en el estudio mencionado previamente evaluó el efecto del remifentanilo en 15 pacientes pediátricos con taquicardia supraventricular a los que se les iba a someter a ablación por radiofrecuencia, y observaron una prolongación significativa del ciclo de Wenckebach, sin encontrar cambios significativos en el intervalo AH ni en la refractariedad nodal.

Zaballos et al., en un estudio experimental porcino realizado en 18 animales anestesiados con propofol, observaron que la administración de remifentanilo afectó el ciclo de Wenckebach, que se prolongó en torno al 17%, frente al 8% del estudio de Niksch. Así mismo, demostraron la prolongación del intervalo AH y la prolongación del PRENAV, aunque este último en el límite de la significación estadística. Nuevamente la metodología diferente en cuanto a la dosis de remifentanilo administrada, superior en el modelo experimental porcino y los sujetos del estudio, pacientes frente a animales de experimentación, justifican las diferencias en los efectos observados entre ambas investigaciones.

Fujii et al. sin embargo, no reportaron efectos del remifentanilo en el intervalo AH con ninguna de las dosis de remifentanilo que evaluaron (0,2 µg/kg/min y 0,4 µg/kg/min), concluyendo en su estudio, que el remifentanilo no tiene efectos a nivel del nodo AV. Probablemente las diferencias metodológicas referidas con anterioridad justifican también las disimilitudes en los resultados reportados por los diferentes autores.

Como hemos referido previamente, el efecto del remifentanilo en la función del nodo AV es comparable a la acción de los agentes bloqueantes del calcio, aunque realmente se desconoce si interactúa con los mismos a nivel cardiaco.

Sin embargo, se ha descrito que la estimulación de los receptores opioides en los miocitos ventriculares reduce la corriente L de calcio (Xiao et al., 1993).

Para poder justificar el conjunto de nuestros hallazgos nuevamente consideramos que sin duda el mecanismo más probablemente implicado es el influjo autonómico del remifentanilo, aunque no podemos descartar otros efectos que no han sido hasta la fecha investigados.

4.2.3. REMIFENTANILO Y SISTEMA HIS-PURKINJE

El intervalo HV, reflejo de la conducción infranodal, no se modificó con la administración de remifentanilo en condiciones de bloqueo autonómico. Así mismo este resultado fue reproducible en los estudios previos sin bloqueo autonómico (Narciso et al., 2014) y en el grupo control realizado en la presente tesis.

Coincidiendo con los resultados de nuestro estudio, Niksch et al. no objetivaron ninguna modificación en el intervalo HV con la administración de dosis de remifentanilo de $0,3 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$, asociado a propofol, en un grupo de pacientes pediátricos con taquicardia supraventricular y sometidos a ablación. Otros autores como Fattorini et al. y Fujji et al. en sus respectivos estudios que analizaban las acciones del remifentanilo en la electrofisiología cardíaca, no evaluaron el sistema His-Purkinje, por tanto no se pueden establecer comparaciones con otras investigaciones.

4.2.4. REMIFENTANILO Y REFRACTARIEDAD

En nuestro estudio observamos que la administración de remifentanilo en condiciones de bloqueo autonómico y con la utilización de sevoflurano como agente de mantenimiento de la anestesia no produjo cambios en la refractariedad auricular. En cambio, obtuvimos una prolongación de la refractariedad ventricular únicamente en el PREVD con ciclo corto de estimulación, manteniéndose sin cambios el PREVD con ciclo largo de estimulación.

Narciso BB et al., en su estudio en un modelo porcino similar al nuestro, no observó modificación del PREVD tras la administración de remifentanilo en animales anestesiados con sevoflurano (Narciso et al., 2014). Al comparar el incremento del PREVD tras la administración de remifentanilo entre ambos modelos sin y con bloqueo autonómico encontramos que las diferencias no son significativas, Tabla 25. Estos hallazgos sugieren que no es por un mecanismo mediado por el sistema nervioso autónomo lo que ha condicionado el aumento del PREVD tras la administración de remifentanilo observada en el presente modelo.

En relación a la implicación del SNA en la refractariedad del tejido auricular y ventricular, cuando existe un daño neural se produce una inestabilidad eléctrica por varios mecanismos electrofisiológicos y dispersión de la refractariedad. Esta dispersión es un indicador de la inducción de arritmias (Zipes, 1997). Sin embargo esta evaluación implica que se debe medir la refractariedad en diferentes regiones del tejido miocárdico. Esta medición no fue realizada en nuestro modelo de estudio, por tanto no podemos referir si el remifentanilo en condiciones de bloqueo autonómico afecta o no a la dispersión de la refractariedad.

En trabajos previos, el remifentanilo combinado con propofol, no alteró la refractariedad auricular ni la ventricular (Niksch et al., 2010) y otros autores como Fattorini, y Fujii no evaluaron estos parámetros en su estudio de remifentanilo y propofol (Fattorini et al., 2003; Fujii. et al, 2011).

En este sentido la implicación del agente anestésico de mantenimiento, el sevoflurano pudo influir en los hallazgos obtenidos. Así Rodríguez-Perez et al., evaluaron en pacientes pediátricos con síndrome de WPW los efectos del

propofol y del sevoflurano en las propiedades de la vía accesoria. Estos autores observaron una prolongación del periodo refractario de la vía accesoria con el sevoflurano. Sin embargo, no aportaron datos de las acciones del anestésico en la refractariedad auricular ni ventricular. (Rodríguez-Pérez et al., 2007).

Sharpe et al., en su estudio realizado en humanos no observó efectos del sevoflurano en la refractariedad ventricular, (Sharpe et al., 1999).

Nuestros resultados podrían sugerir que el remifentanilo puede ejercer un leve efecto en la refractariedad ventricular. Sin embargo, si analizamos el grupo control vemos como el PREVD con ciclo corto de estimulación también se incrementó aunque mínimamente, (nuevamente próximo a la significación estadística). Esto quizás sugiere que el tiempo de instrumentalización, el efecto acumulado del sevoflurano ha podido afectar a esta propiedad. Algunas observaciones clínicas en el contexto de la ablación de vías accesorias implican al sevoflurano en la prolongación de la refractariedad. Así Caldwell et al., cuestionan la utilización de sevoflurano en los estudios electrofisiológicos y muestran un caso clínico en el que en un paciente varón anestesiado con sevoflurano, obtuvieron un periodo refractario en la vía accesoria en límites de la normalidad. Al administrar isoproterenol los valores persistieron en rango normal, pero no pudieron inducir la taquicardia supraventricular, por lo que decidieron sustituir el sevoflurano por propofol. El nuevo estudio realizado con propofol, mostró una vía accesoria con un periodo refractario mucho mas corto y potencialmente letal (Caldwell et al., 2010).

En relación al intervalo QT y al intervalo QTc, que representan la expresión electrocardiográfica de la repolarización ventricular (Burton y Cobbe, 2001) nuestros hallazgos muestran que el intervalo QT se prolongó y que este efecto se mantuvo en el límite de la significación al corregirlo por la frecuencia cardiaca ($p=0,09$). Diversos estudios realizados han evaluado los efectos del remifentanilo en el intervalo QT. Cafiero et al. analizaron el efecto del remifentanilo en comparación con fentanilo en el intervalo QT, y en la dispersión del intervalo QT (definido como la diferencia entre el QT más largo y el QT más corto medido en las 12 derivaciones del ECG) durante la inducción anestésica e intubación traqueal. Se estudiaron 50 pacientes divididos en los dos grupos de estudio que fueron premedicados con midazolam y anestesiados

con propofol y cisatracurio para facilitar la intubación. El mantenimiento se realizó con sevoflurano. Se realizaron mediciones de forma basal, tras la inducción anestésica, al minuto y a los tres minutos de la intubación. Los autores observaron que el remifentanilo redujo significativamente la dispersión del intervalo QT durante la inducción de la anestesia en relación a los valores basales y en comparación con el fentanilo (Cafiero et al., 2010).

Otro estudio evaluó el efecto en el intervalo QTc, de dos dosis de remifentanilo de $0,5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ó de $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$ en comparación con salino, asociado a una inducción inhalatoria con sevoflurano. Se estudiaron 60 pacientes observándose que tras la intubación el intervalo QTc se prolongó significativamente en el grupo salino y en el grupo de dosis bajas de remifentanilo, mientras que en el grupo de dosis altas no se observaron cambios. Los autores concluyen que el remifentanilo puede proteger de los efectos de maniobras como la intubación que pueden asociarse a incrementos en el intervalo QT, como consecuencia de la estimulación del sistema autónomo (Kweon et al., 2008).

En esta misma línea de investigación otro estudio corroboró que el remifentanilo asociado a sevoflurano, en comparación con placebo se asoció con una menor prolongación en el intervalo QTc tras la inserción de una mascarilla laríngea. Así mismo observaron que el porcentaje de pacientes que presentaron un intervalo QTc mayor de 450 ms fue superior en el grupo placebo (75%) frente al grupo remifentanilo (20%) (Kim et al., 2011).

Las diferencias entre estos hallazgos y los obtenidos en nuestro estudio pueden justificarse por varias razones como son el protocolo anestésico, siendo así que la utilización de propofol versus sevoflurano puede afectar a los resultados, ya que la administración de propofol no se asocia habitualmente con la prolongación del intervalo QT, y sin embargo el sevoflurano si lo prolonga. Sin embargo en los estudios referidos, en los que se utilizó sevoflurano como en nuestro experimento, las mediciones se realizaron de forma muy inmediata a la inducción anestésica, intubación o inserción de una mascarilla laríngea. Es decir, el tiempo de administración de sevoflurano fue corto en comparación con nuestro protocolo, donde los animales llevaban un tiempo considerable recibiendo sevoflurano y los efectos de este agente en este parámetro pudieron manifestarse de una forma más intensa.

En un estudio reciente se evaluó en pacientes, los efectos en el intervalo QTc y en el intervalo Tp-e (intervalo entre el pico y el final de la onda T; es un índice muy valioso sobre la dispersión transmural de la repolarización) de tres combinaciones anestésicas (sevoflurano, sevoflurano y remifentanilo y sevoflurano y nitroglicerina), para realizar hipotensión controlada. En este estudio a los 30 minutos de la inducción de la anestesia todos los grupos presentaron una prolongación del intervalo QTc, pero que sólo fue significativa en el grupo de sevoflurano, que recibió una dosis mayor de sevoflurano que el resto de los grupos (Çimen et al., 2016).

Investigaciones previas han mostrado de forma consistente que la administración de sevoflurano se asocia con efectos en el intervalo QT, tanto en modelos animales como en humanos adultos y niños. Parece que el mecanismo implicado es una inhibición de los canales I_{HERG} , y los canales IKr, que se asocian con una prolongación de la repolarización. Este aumento en el QTc inducido por el sevoflurano, ha sido observado en adultos sanos y de una forma dosis dependiente (Han e al., 2010). Así mismo se ha descrito que si bien el sevoflurano induce una prolongación de la repolarización, su administración no se asocia con un aumento de la heterogeneidad de la repolarización transmural, parámetro que sí que se relaciona con el potencial de inducir arritmias (Staïkou et al., 2014).

El conjunto de los datos disponibles sugiere que el efecto en la refractariedad observado pudo deberse al efecto acumulativo del sevoflurano que se manifestó más intensamente en el segundo estudio electrofisiológico. Aunque no podemos descartar que el remifentanilo posea un mecanismo de acción diferente, que afecte a los canales iónicos implicados en la repolarización ventricular y no mediado por el SNA. Los periodos refractarios del ventrículo parecen ser relativamente independientes del tono autonómico, a diferencia del nodo sinusal y del nodo AV, por lo que se podría intuir que el leve efecto del remifentanilo sobre el miocardio ventricular sería independiente de la influencia vagotónica. Sin embargo, al desconocer los mecanismos iónicos que conllevan el efecto del remifentanilo sobre los miocitos de la aurícula y el ventrículo, no podemos considerar que nuestros resultados se deban a un efecto específico sobre una determinada corriente iónica.

4.3. GRUPO CONTROL

La realización de un grupo control con 4 animales en los que se remplazó el remifentanilo por suero salino, sin duda da consistencia y refuerza los hallazgos observados. Por un lado quisimos averiguar que nuestro modelo era estable y que el animal no presentaba ningún deterioro derivado de la instrumentalización, tiempo de estudio y de la aplicación de los dos protocolos de estimulación electrofisiológica. En este sentido, la realización de los estudios electrofisiológicos en los que se aplican frecuencias de estimulación elevadas de hasta 150 lpm produce una estimulación intensa con potencial liberación de catecolaminas (Morady et al, 1986). Estas catecolaminas pueden ser directamente o indirectamente liberadas como consecuencia de la estimulación cardíaca directa o de forma refleja tras la hipotensión que sucede durante la estimulación a frecuencias elevadas. Tanto los resultados electrofisiológicos como los datos hemodinámicos y de los gases sanguíneos no han mostrado cambios desde la situación basal hasta la finalización del estudio. Esto sugiere que los hallazgos electrofisiológicos descritos para el remifentanilo en las investigaciones previas sin bloqueo autonómico y que no han sido corroboradas en la presente tesis, en condición de bloqueo autonómico pueden atribuirse en su gran mayoría a los efectos del opioide en el SNA.

4.4. IMPLICACIONES CLÍNICAS

Los hallazgos electrofisiológicos mostrados en nuestro trabajo son coincidentes con publicaciones previas que sugieren que desde el punto de vista clínico los efectos cardiovasculares del remifentanilo pueden ser mediados por una acción en el SNA. Komatsu et al. realizaron una revisión sistemática en la que se incluyeron más de 13.000 pacientes y en la que compararon diversos aspectos del remifentanilo con otros opioides de vida media corta como alfentanilo, fentanilo y sufentanilo durante la anestesia general. Los autores concluyeron que el remifentanilo producía una mayor frecuencia de bradicardia e hipotensión intraoperatorias en relación a los otros opiáceos evaluados y así mismo que su utilización se asociaba con un mayor uso de agentes vasopresores y de anticolinérgicos (Komatsu et al., 2007).

Diversos investigadores han descrito una mayor incidencia de alteraciones hemodinámicas con la administración de remifentanilo cuando los pacientes estaban tomando fármacos beta-bloqueantes, bloqueantes de los canales del calcio o inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (Dershwitz et al., 1995). Los efectos cardiovasculares también se han relacionado con otros factores como el modo de administración del fármaco, dado que disminuye la incidencia de efectos adversos cuando se inyecta lentamente y si se evita la asociación con situaciones de elevada estimulación vagal, así como con la administración conjunta de otros fármacos con efecto bradicardizante.

Reid et al. comunicaron la aparición de un episodio de bradicardia grave de 31 latidos/minuto e hipotensión en una paciente de edad avanzada, en tratamiento con beta-bloqueantes, tras la inducción anestésica para una intervención de reparación de una perforación ocular (Reid et al., 2000). La bradicardia no respondió a la terapia con dos dosis de atropina, requiriendo una perfusión de adrenalina y el traslado de la paciente a la Unidad de Cuidados Intensivos, precisando la colocación de un marcapasos temporal. La cirugía se llevó a cabo al día siguiente y la enferma finalmente fue dada de alta con un marcapasos permanente. Se consideró la posibilidad de que la dosis en bolo de 1µg/kg fuera excesiva y que las dosis debieran reducirse en el anciano, aunque probablemente la coexistencia de una patología asociada del nodo sinusal pudo manifestarse durante la anestesia.

Kurdi et al. describieron la aparición de asistolia que no respondió a la administración de atropina intravenosa durante la inducción anestésica mediante un bolo de remifentanilo de $0,5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ y sevoflurano al 8%, en un paciente que iba a ser sometido a una cirugía endolaríngea. Los autores postularon que la inducción de secuencia rápida con sevoflurano pudo disminuir el tono simpático exacerbándose la activación del sistema nervioso parasimpático por el remifentanilo (Kurdi et al., 2001). En este sentido nosotros hemos provocado en el animal un bloqueo parasimpático intenso tal y como se constató en los animales dedicados al estudio del bloqueo autónomo. En este contexto de bloqueo intenso parasimpático, los efectos del remifentanilo en los parámetros electrofisiológicos muy dependientes del SNA no se han manifestado. Sin embargo puede ser posible que en un contexto clínico determinado los efectos adversos del remifentanilo no pueden ser revertidos fácilmente por una dosis incluso elevada de un agente anticolinérgico.

Recientemente se ha descrito un caso en el que una posible administración inadvertida de una dosis elevada de remifentanilo desencadenó una miocardiopatía de Takotsubo. La paciente de 69 años, con antecedentes de hipertensión en tratamiento con carvedilol y epilepsia, iba a ser intervenida de cataratas bajo anestesia general, por requerimiento propio. Durante la inducción desarrolló un episodio de desaturación hasta cifras de SpO_2 de 77% y bradicardia de 20 lpm, se sospecho que se había administrado de forma casual una dosis importante de remifentanilo. Se realizaron medidas de resucitación y se administró adrenalina con recuperación cardiorespiratoria de la enferma. Sin embargo la paciente refirió dolor torácico sospechándose lesión miocárdica y durante su ingreso en cuidados intensivos se realizó un ecocardiograma que mostro la citada cardiomiopatía. La función cardiaca se recuperó gradualmente y fue dada de alta a los 15 días. los autores concluyen que la causa de la miocardiopatía de Takotsubo fue probablemente secundaria a la administración de adrenalina. Este caso pone de nuevo de manifiesto la relevancia del efecto de la dosis y la medicación concomitante en la aparición de los efectos adversos del remifentanilo (Furuichi et al., 2016)

Elliot et al. comunicaron inestabilidad hemodinámica grave tras la administración de una dosis en bolo de remifentanilo de $1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, en ocho pacientes sometidos a cirugía de revascularización coronaria, que obligó a

suspender el estudio, el cual se había planificado realizar en 60 pacientes (Elliot et al., 2000). En todos los casos existía un tratamiento antianginoso similar que incluía nitratos, bloqueantes del calcio (salvo diltiazem), IECAS y beta-bloqueantes. Los pacientes presentaron una depresión grave de su situación hemodinámica con una disminución de la frecuencia cardiaca media del 17% con respecto a las cifras basales y de la presión arterial media del 40%. Incluso en cuatro enfermos, cuyo deterioro fue más grave, la frecuencia cardiaca disminuyó desde un 14 a un 37%, la presión arterial media disminuyó de un 37 a un 55% y las resistencias vasculares sistémicas en un porcentaje del 29 al 73%. Además en un caso se evidenció isquemia miocárdica mediante el análisis del segmento ST.

En el trabajo de Wang et al. se comparó la inducción anestésica en dos grupos de pacientes con patología coronaria. En un primer grupo la inducción se llevó a cabo mediante sevoflurano-remifentanilo y en el segundo grupo con fentanilo-etomidato. La administración de remifentanilo se asoció con bradicardia grave en tres pacientes y asistolia en un cuarto. Todos ellos estaban en tratamiento con fármacos beta-bloqueantes y tres de ellos tenían además asociado diltiazem. El estudio se dio por concluido al observar la alta incidencia de complicaciones de tipo bradicardia/asistolia (Wang et al., 1999).

DeSouza describió la presencia de bradicardia extrema e hipotensión en seis de treinta pacientes sometidos a cirugía cardiorácica tras la administración de un bolo de remifentanilo de $1\mu\text{g.kg}^{-1}$ seguido de una perfusión continua de $0,1-0,2\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$. Todos los casos respondieron inmediatamente a la administración de efedrina y a la retirada de la perfusión de remifentanilo. En el estudio se postuló que quizás la causa de la bradicardia fuera secundaria a la acción vagal del remifentanilo. Aunque también se consideraron otros factores predisponentes como la velocidad de inyección utilizada, que fue en el bolo, administrándose $10\mu\text{g}$ en 4 segundos, y de la medicación concomitante con fármacos beta-bloqueantes, concretamente con metoprolol (DeSouza et al., 1997).

El descenso de la frecuencia cardiaca y del índice de volumen sistólico provocado por la administración de remifentanilo a altas dosis, $2\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$, en 12 pacientes durante la cirugía de revascularización coronaria, son considerados por Kazmaier et al. responsables de la disminución significativa

del índice cardíaco que tuvo lugar (Kazmaier et al., 2000). Los autores además observaron que el remifentanilo inducía una disminución en el flujo sanguíneo miocárdico y en el consumo miocárdico de oxígeno. Estos hallazgos fueron similares a los obtenidos cuando se administraron dosis inferiores de remifentanilo de $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, asociado a propofol. En este estudio no se describió la aparición de episodios graves de bradicardia.

Tras estas publicaciones se cuestionó la utilización del remifentanilo en los pacientes con enfermedad coronaria, aunque otros autores sin embargo constatan la eficacia y la estabilidad hemodinámica intraoperatoria del remifentanilo durante la cirugía de revascularización coronaria. Así Möllhoff et al. en un estudio multicéntrico que incluyó a 321 pacientes sometidos a cirugía de revascularización coronaria, observó que el remifentanilo suprimió más eficazmente la respuesta a los diversos estímulos dolorosos en comparación con el fentanilo, salvo en el momento de la intubación orotraqueal, si bien hubo un mayor número de episodios de hipertensión y temblores en la fase de transición al régimen de analgesia postoperatoria (Möllhoff et al., 2001).

El remifentanilo en dosis de $1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ en bolo seguido de $0,5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, administrado durante 30 min de forma previa a la esternotomía, como pre-acondicionamiento isquémico, en la cirugía de revascularización coronaria, mostró efectos protectores, con disminución de los marcadores de isquemia miocárdica frente al grupo control, que recibió suero salino. (Wong et al., 2010). Abundando en lo mismo un metaanálisis reciente reveló que el remifentanilo en la cirugía de revascularización coronaria aporta beneficios en cuanto a una reducción de los tiempos de ventilación mecánica postoperatoria, estancia hospitalaria y de la elevación de las troponinas tras la cirugía. Sin embargo, los autores señalan la necesidad de evitar dosis elevadas en bolo, para asegurar la estabilidad hemodinámica (Greco et al., 2012).

Por otro lado, las propiedades del remifentanilo en el control de la frecuencia cardíaca han propiciado que se utilice en situaciones como la FA rápida para controlar la respuesta ventricular (Williams & Spoelstra, 2002). El remifentanilo favorece el enlentecimiento de la conducción AV, y por tanto la respuesta ventricular en el contexto de una FA rápida.

Un estudio reciente evaluó qué dosis de remifentanilo con o sin un agente hipnótico (propofol) que producía bradicardia, mostrando que la dosis de

remifentanilo que inducía bradicardia era menor cuando se asociaba con un agente hipnótico. Los autores recomiendan estar alerta con el uso concomitante de remifentanilo y propofol ante la posibilidad de una bradiarritmia que precise de un tratamiento específico (Hayashi K y Tanaka A, 2016).

Al igual que en los adultos, el remifentanilo disminuyó la frecuencia cardíaca en los pacientes pediátricos, que incluso se manifestó a pesar de la administración de atropina previamente a la inducción (Klemola et al., 2000).

Estudios hemodinámicos y ecográficos durante la anestesia pediátrica con sevoflurano y remifentanilo han demostrado que la caída de la frecuencia cardíaca asociada al remifentanilo es la responsable del descenso en la tensión arterial y en el índice cardíaco (Chavanaz et al., 2005). En general los episodios de hipotensión y bradicardia se resolvieron espontáneamente sin intervención farmacológica cuando se reducía la velocidad de administración de remifentanilo. En el grupo de estudio al que se administró previamente atropina, la caída de la frecuencia cardíaca se pudo evitar, pero la reducción del índice cardíaco, aunque fue menor, no se previno completamente.

El efecto del remifentanilo sobre el sistema nervioso autónomo es controvertido. Tirel et al. han propuesto un efecto cronotrópico negativo directo del remifentanilo al observar que la inhibición parasimpática de la atropina no prevenía totalmente el efecto cronotrópico negativo que tenía lugar en niños anestesiados con remifentanilo y sevoflurano (Tirel et al., 2005). El estudio evaluó el efecto del remifentanilo sobre el intervalo RR y la variabilidad de la frecuencia cardíaca mediante la medida del componente de alta frecuencia que es un marcador de la actividad parasimpática. Se establecieron dos grupos de pacientes diferenciados en el que uno recibía premedicación con atropina y el otro grupo no. El remifentanilo indujo un alargamiento del intervalo RR en ambos grupos comparado con los valores basales y se asoció con un incremento del componente de alta frecuencia de la variabilidad sólo en el grupo que no había recibido atropina. Los autores concluyen que la acción parasimpaticolítica de la atropina no previene en su totalidad el efecto cronotrópico negativo del remifentanilo, proponiendo por tanto un efecto cronotrópico negativo directo del fármaco. Nuestro estudio ha mostrado sin embargo que los efectos mediados por el SNA descritos con anterioridad por

nuestro grupo de trabajo, no se han evidenciado tras la instauración del bloqueo autonómico. Sin embargo pensamos que en las dosis clínicas habituales en las que se utilizan los agentes parasimpaticolíticos como la atropina, pueden resultar insuficientes para abolir la estimulación del SNA que produce el remifentanilo. La dosis utilizada en nuestro estudio fue de $0,04 \text{ mg.kg}^{-1}$ en lugar de $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$, que se emplea habitualmente en anestesia.

Recientemente Wujtewicz et al., evaluaron la relación entre el tono autonómico basal de 70 pacientes y el riesgo de presentar bradicardia con la administración de remifentanilo. Determinaron el tono autonómico con el análisis de la variabilidad de la frecuencia cardiaca mediante un sistema de ECG Holter. Hicieron una determinación basal, 5 minutos antes de la administración de $1 \text{ }\mu\text{g.kg}^{-1}$ de remifentanilo en 30 segundos analizando la respuesta a los 5 minutos. Se observó bradicardia (definida como una FC inferior a 60 lpm) en 17 de los 70 pacientes. En un análisis multivariable, se relacionó la aparición de bradicardia con la administración de remifentanilo con la presencia de una frecuencia cardiaca basal baja y no con el tono autonómico, la presión arterial media o el sexo de los pacientes (Wujtewicz et al., 2016).

Un estudio realizado en conejos evaluó las diferencias de la administración de remifentanilo en animales en los que se mantenía el sistema del neuroeje intacto, comparándolos con un grupo de animales que fueron baro-denervados (Shinohara et al., 2000). Los autores midieron en ambos grupos los valores de frecuencia cardiaca, presión arterial y actividad simpática renal tras la inyección en bolo de distintas dosis de remifentanilo (1 , 2 y $5 \text{ }\mu\text{g.kg}^{-1}$). Se realizó medición de la sensibilidad arterial barorefleja mediante un test depresor utilizando nitroprusiato sódico. En los animales con neuroeje intacto los valores de la tensión arterial y de la frecuencia cardiaca descendieron levemente, inmediatamente después de la administración de remifentanilo en las diferentes dosis. La actividad nerviosa simpática renal aumentó significativamente de forma dosis dependiente, incluso cuando la frecuencia cardiaca y la tensión arterial habían vuelto a sus valores basales. El test depresor utilizado no demostró que el remifentanilo atenuara la sensibilidad barorefleja arterial. Sin embargo, en los animales baro-denervados la presión arterial y la frecuencia cardiaca descendieron gradualmente varios minutos después de administrar $5 \text{ }\mu\text{g.kg}^{-1}$ de remifentanilo, incrementándose la actividad simpática renal en

menor cuantía que en los animales con neuroeje intacto. Los cambios en los animales barodenervados fueron abolidos por el pretratamiento con naloxona. Los autores concluyeron que la bradicardia y la hipotensión encontradas en los animales con neuroeje intacto eran secundarias a una acción central vagotónica del remifentanilo. En los animales barodenervados sugieren una acción periférica directa a través de la estimulación de receptores opioides μ , presumiblemente localizados en el sistema nervioso periférico y en el sistema cardiovascular. Este efecto periférico ha sido observado con otros opioides como el fentanilo y se atribuyó a un efecto cronotrópico negativo directo por estimulación de los receptores μ en las preparaciones de nodo sinusal de conejo (Saeki et al., 1995).

Un estudio realizado en corazón aislado de rata, analizó y comparó los efectos en la frecuencia cardíaca, contractilidad y perfusión coronaria del remifentanilo y fentanilo. Este estudio mostró una disminución significativa de la frecuencia cardíaca con ambos opiáceos, más intensa con el remifentanilo. Los autores nuevamente sugieren que el efecto de los opiáceos en la frecuencia cardíaca, no sólo está mediado por un mecanismo vagotónico (Gürkan et al., 2005)

El remifentanilo ejerce su efecto sobre las células más activamente estimuladas por las acciones adrenérgicas. Al enlentecer el automatismo espontáneo del nodo sinusal, podría ocurrir una bradicardia severa en las situaciones en que el corazón es particularmente dependiente del tono simpático o si está presente una disfunción del nodo sinusal. Así mismo en situaciones clínicas como la cirugía ocular, cirugía de carótida, hipotermia, hipertensión intracraneal, o si se asocia el uso de fármacos parasimpaticomiméticos, el enlentecimiento del automatismo del nodo sinusal provocado por el remifentanilo puede convertirse en una bradiarritmia severa pudiendo llegar a la parada sinusal. Sabemos con nuestros hallazgos que si bloqueamos intensamente el sistema parasimpático, los efectos en la función sinusal y nodal del remifentanilo desaparecen, lo que indica que a nivel clínico la administración de un agente antagonista parasimpático en dosis suficientes revertiría el efecto del remifentanilo. Sin embargo estos fármacos también tienen efectos adversos que habrá que considerar ante cada situación y paciente determinado.

En los ancianos, se producen cambios histológicos en el nodo sinusal y la administración concomitante de fármacos con efectos electrofisiológicos

pueden facilitar una mayor sensibilidad del nodo sinusal a la acción del remifentanilo. Será por tanto en las situaciones clínicas anteriormente citadas en las que la utilización del remifentanilo ha de ser especialmente cuidadosa para evitar la aparición de bradiarritmias.

Nuestra línea de investigación ha constatado que las acciones del remifentanilo en la función sinusal y nodal, y sin bloqueo autonómico, son independientes del agente anestésico que se utilice de forma concomitante, ya que las modificaciones electrofisiológicas fueron evidentes en su asociación con sevoflurano o con propofol. De igual manera hemos evidenciado con los hallazgos de la presente tesis que dichas acciones fundamentalmente están mediadas a través de la activación del sistema nervioso autónomo.

5. LIMITACIONES

Los resultados de nuestra experimentación han sido evaluados específicamente con una asociación anestésica habitual de remifentanilo y sevoflurano. Como quiera que los agentes inductores anestésicos poseen acciones diferenciadas en el sistema nervioso autónomo, no podemos aseverar que en otras combinaciones anestésicas como remifentanilo y propofol o remifentanilo y midazolam, los resultados fueran similares. Sin embargo pensamos que la calidad e intensidad del bloqueo autonómico, realizado previamente, es suficiente parara abolir los efectos de los anestésicos en el SNA, validando los hallazgos obtenidos.

Nuestra investigación ha realizado el bloqueo autonómico farmacológico conforme a los hallazgos obtenidos en un grupo previo de animales y siguiendo una metodología similar a investigaciones previas consolidas. Podría sugerirse que una evaluación de la variabilidad de la frecuencia cardiaca antes y después del bloqueo autonómico y en especial del componente vagal, hubiera aportado información sustancial al experimento. Sin embargo tal y como muestran recientes estudios la relación entre la variabilidad de la frecuencia cardiaca y el tono vagal, es compleja, con una gran variabilidad interindividual, e inconsistente para predecir el tono vagal entre individuos (Picard et al., 2009)

Finalmente hay que reflexionar que nuestro estudio ha sido realizado en un modelo experimental animal, incluyendo especímenes sanos y que la extrapolación de nuestros resultados al hombre debe realizarse con precaución, y aún más en pacientes con patología adicional. Destacar que los hallazgos mostrados en la presente tesis, son coincidentes y en la misma línea de las observaciones descritas en la práctica clínica diaria.

CONCLUSIONES

En el presente estudio hemos analizado los efectos del remifentanilo, opioide de vida media corta, en el sistema de conducción cardíaco en condiciones de bloqueo autonómico previamente determinado. Con nuestro protocolo de estudio y metodología empleada hemos obtenido unos resultados que podemos elevar a conclusiones y que pasamos a enumerar:

Primera

- El remifentanilo a dosis clínicas de $0,5 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ y en condiciones de bloqueo autonómico con atropina y propranolol, afectó de forma mínima al automatismo sinusal, manifestándose por un descenso en la frecuencia cardíaca, sin modificarse de forma significativa el tiempo de recuperación del nodo sinusal, ni la conducción sinoatrial.

Segunda

- El remifentanilo, en las dosis mencionadas y en condiciones de bloqueo autonómico con atropina y propranolol, no afectó la función nodal, no aumentó los tiempos de conducción, ni la refractariedad nodal ni el punto de Wenckebach.

Tercera

- El remifentanilo en condiciones de bloqueo autonómico con atropina y propranolol, no afectó a la conducción infranodal.

Cuarta

- El remifentanilo en condiciones de bloqueo autonómico con atropina y propranolol y a las dosis empleadas no afectó la refractariedad auricular.

Quinta

- El remifentanilo, en condiciones de bloqueo autonómico con atropina y propranolol y a las dosis empleadas produjo una prolongación modesta pero significativa de la refractariedad ventricular con ciclo corto de estimulación.

Sexta

- De ser extrapolables los hallazgos de nuestro modelo experimental a la práctica clínica humana, el remifentanilo debería usarse con cautela en pacientes con bradiarritmias espontáneas, en tratamiento concomitante con fármacos tales como betabloqueantes, amiodarona o antagonistas del calcio, y en los escenarios anestésicos en los que exista un elevado tono vagal.

Octava

- En el contexto clínico ante la aparición de una bradiarritmia grave en un paciente bajo tratamiento anestésico con remifentanilo, este debe ser considerado como uno de los posibles agentes causantes de esta complicación.

Novena

- Los efectos del remifentanilo pueden ser minimizados con la administración de agentes parasimpaticolíticos, si bien es cierto que en determinados contextos clínicos pueden precisarse dosis superiores a las utilizadas habitualmente en la práctica clínica.

BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

Amin HM, Sopchak AM, Esposito BF, Henson LG, Batenhorst RL, Fox AW, Camporesi EM. Naloxone- induced and spontaneous reversal of depressed ventilatory responses to hipoxia during and after continuous infusion of remifentanil or alfentanil. <i>J Pharmacol Exp Ther</i> 1995; 274(1): 34-9.
Angst MS. Intraoperative Use of Remifentanil for TIVA: Postoperative Pain, Acute Tolerance, and Opioid-Induced Hyperalgesia. <i>J Cardiothorac Vasc Anesth</i> . 2015 Jun;29 Suppl 1:S16-22.
Atlee JL 3rd, Brownlee SW, Burstrom RE. Conscious-state comparisons of the effects of inhalation anesthetics on specialized atrioventricular conduction times in dogs. <i>Anesthesiology</i> . 1986;64(6):703-10.
Atlee JL 3rd, Yeager TS. Electrophysiologic assessment of the effects of enflurane, halothane, and isoflurane on properties affecting supraventricular re-entry in chronically instrumented dogs. <i>Anesthesiology</i> . 1989;71(6):941-52.
Bohn LM, Gainetdinov RR, Lin FT, Lefkowitz RJ, Caron MG. Mu-Opioid receptor desensitization by β -arrestin-2 determines morphine tolerance but no dependence. <i>Nature</i> 2000;7,408(6813):720-3.
Boschert K, Flecknell PA, Fosse RT, Framstad T, Ganter M, Sjøstrand U, et al. Ketamine and its use in pigs. <i>Lab Anim</i> 1996;30:209-19.
Brunner MD, Braithwaite P, Jhaveri R, McEwan AI, Goodman DK, Smith LR, et al. The MAC reduction of isoflurane by sufentanil. <i>Br J Anaesth</i> 1994;72(1):42-6.
Brunsting JR, Bennekens JH, Schuil HA, Zijlstra WG. Incomplete cardiac vagal blockade with atropine in the anesthetized dog. <i>Pflugers Arch</i> . 1979;381(3):293-5.
Brunsting JR, Schuil HA, Zijlstra WG. Intrinsic heart rate in the dog determined by pharmacologic denervation. <i>Am J Physiol</i> . 1983;245(4):H592-7.
Burton FL, Cobbe SM. Dispersion of ventricular repolarization and refractory period. <i>Cardiovasc Res</i> . 2001;50(1):10-23.
Cafiero T, Di Minno RM, Di Iorio C. QT interval and QT dispersion during the induction of anesthesia and tracheal intubation: a comparison of remifentanil and fentanyl. <i>Minerva Anesthesiol</i> . 2011;77(2):160-5.
Caldwell JC, Fong C, Muhyaldeen SA. Should sevoflurane be used in the electrophysiology assessment of accessory pathways? <i>Europace</i> . 2010; 12(9):1332-5.
Camu F, Royston D. Inpatient experience with remifentanil. <i>Anesth Analg</i> 1999; 89 (4 Suppl): S15-21.
Cerutti S, Baselli G, Pagani M, and Malliani A. Heart rate variability as an index of sympathovagal interaction after acute myocardial infarction. <i>Am J Cardiol</i> 60: 1239–1245, 1987.
Chavanaz C, Tirel O, Wodey E, Bansard J.Y, Senhadji L, Robert J.C, Ecoffey C. Haemodynamic effects of remifentanil in children with and without intravenous atropine. An echocardiographic study. <i>Br J Anaesth</i> 2005;94(1):74-9.
Çimen NK, Kösem B, Çimen T, Kartal S, Muslu B, Karabayırlı S, Gözdemir M, Kılınç H. Effects of remifentanil, nitroglycerin, and sevoflurane on the corrected

QT and Tp-e intervals during controlled hypotensive anesthesia. J Clin Anesth. 2016;33:365-72.
Coda BA. Opioids. En: Barassh PG, Cullen BF, Stoelting RK editors. Clinical Anesthesia. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia; 2001.p.345-75.
Cosín Aguilar J, García Civera R, Cabades O'Callaghan A. Electrofisiología celular cardiaca. En: García Civera R, Cabades A, Cosín J, editors. Automatismo y Conducción Cardiacos. Barcelona: MCR;1988.p.15-29.
Cosín J, Salvador A, Garrido J, Olagüe de Ros J, Algarra F. Fenómeno de Wenckebach intraauricular. Aportación de un caso. Rev Esp Cardiol 1976;29:465-69.
Cullen PM, Turtle M, Prys-Roberts C, Way WL, Dye J. Effect of propofol anesthesia on baroreflex activity in humans. Anesth Analg 1987; 66: 1115–20.
Davis PJ, Lerman J, Suresh S et al. A randomized multicenter study of remifentanilo compared with alfentanilo, sevoflurane, or propofol in anesthetized pediatric patients undergoing elective strabismus surgery. Anesth Analg 1997;84(5): 982-9.
Del Blanco B. Valoración de la interacción de agentes anestésicos (propofol, sevoflurano) de uso concomitante en los efectos electrofisiológicos del remifentanilo en un modelo experimental porcino. M Zaballos García, M ^a J Anadón Baselga, J Almendral (Dir.). 2012. Tesis Doctoral Universidad Complutense (Consulta en 10-06-2016). Disponible en http://eprints.ucm.es/17159/1/T34048.pdf
Dershwitz M, Hoke JF, Rosow CE, Michałowski P, Connors PM, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of remifentanil in volunteers subjects with severe liver disease. Anesthesiology 1996; 84(4): 812-20.
Dershwitz M, Randel GI, Rosow CE, Fragen RJ, Connors PM, Librojo ES, et al. Initial clinical experience with remifentanil, a new opioid metabolized by esterases. Anesth Analg 1995; 81(3): 619- 23.
DeSouza G, Lewis MC, Terriet MF. Severe bradycardia after remifentanyl. Anesthesiology 1997; 87(4): 1019-20.
Deutschman CS, Harris AP, Fleisher LA. Changes in heart rate variability under propofol anesthesia: a possible explanation for propofol-induced bradycardia. Anesth Analg 1994; 79:373-7.
Dhingra RC, Winslow E, Puget J, Rahimtoola S, Rosen KM. The effect of isoproterenol on atrioventricular and intraventricular conduction. Am J Cardiol 1973; 32(5): 629-36.
DiFrancesco D. The role of the funny current in pacemaker activity. Circ Res. 2010; 19; 106(3):434-46.
Donald DE. Myocardial performance after excision of the extrinsic cardiac nerves in the dog. Circ Res. 1974;34:417-24.
Donald DE. Myocardial performance after excision of the extrinsic cardiac nerves in the dog. Circ Res. 1974 Apr;34(4):417-24.
Dümcke CW, Møller S. Autonomic dysfunction in cirrhosis and portal hypertension. Scand J Clin Lab Invest. 2008;68:437-47.
Ebert TJ, Harkin CP, Muzi M. Cardiovascular responses to sevoflurane: a review. Anesth Analg 1995; 81: S11–22.
Ebert TJ, Muzi M, Lopatka CW. Neurocirculatory responses to sevoflurane in humans: a comparison to desflurane. Anesthesiology 1995;83:88 – 95.
Ebert TJ, Muzi M: Propofol and autonomic reflex function in humans. Anesth Analg 1994; 78:369–75.

Ebert TJ. Differential effects of nitrous oxide on baroreflex control of heart rate and peripheral sympathetic nerve activity in humans. <i>Anesthesiology</i> 1990;72:16-2.
Ebert TJ. Is gaining control of the autonomic nervous system important to our specialty? <i>Anesthesiology</i> . 1999;90:651-3.
Egan TD, Brock-Utne JG. Asystole after anesthesia induction with a fentanyl, propofol, and succinylcholine sequence. <i>Anesth analg</i> 1991;73(6): 818-20.
Egan TD, Huizinga B, Gupta SK, Jaarsma RL, Sperry RJ, Yee JB, et al. Remifentanyl pharmacokinetics in obese versus lean patients. <i>Anesthesiology</i> 1998;89(3): 562-73.
Egan TD, Lemmens HJ, Fiset P, Hermann DJ, Muir KT, Stanski DR. The pharmacokinetics of the new short-acting opioid remifentanyl (GI87084B) in healthy adult males volunteers. <i>Anesthesiology</i> 1993;79(5):881-92.
Egan TD, Minto CF, Hermann DJ, Barr J, Muir KT, Shafer SL. Remifentanyl versus alfentanil: comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics in healthy adult male volunteers. <i>Anesthesiology</i> 1996;84(4): 821-33.
Elliott P, O'Hare R, Bill K, Phillips A, Gibson F, Miirakhur R. Severe cardiovascular depression with remifentanyl. <i>Anesth Analg</i> 2000;91(1): 58-61.
Evans JM, Randall DC, Funk JN, Knapp CF. Influence of cardiac innervation on intrinsic heart rate in dogs. <i>Am J Physiol</i> . 1990 Apr;258(4 Pt 2):H1132-7.
Fattorini F, Romano R, Ciccaglioni A, Pascarella MA, Rocco A, Mariani V, et al. Effects of remifentanyl on human heart electrical system. <i>Minerva Anestesiol</i> 2003;69(9):673-9.
Feldman PL, James MK, Brackeen MF, Bilotta JM, Schuster SV, Lahey AP, et al. Design, síntesis, and pharmacological evaluation of ultrashort -to long-acting opioid analgesics. <i>J Med Chem</i> 1991;34:2202-8.
Forrest J, Cahalan M, Rehder K, Goldsmith C, Levy R, Strunin L, et al. Multicenter study of general anesthesia. II. Results. <i>Anesthesiology</i> 1990;72(2): 262-8.
Forrest J, Rehder K, Cahalan M, Goldsmith C: Multicenter study of general anesthesia. III. Predictors of severe perioperative adverse outcomes. <i>Anesthesiology</i> 1992;76(1): 3-15.
Fujii K, Iranami H, Nakamura Y, Hatano Y. High dose remifentanyl supresses sinoatrial conduction and sinus automaticity in pediatric patients under propofol-based anesthesia. <i>Anesthesia & analgesia</i> 2011;112(5):1169-1173.
Fukuda K. Opioids. En <i>Miller'S Anesthesia</i> . Miller RD editor. Filadelfia. Elsevier Saunders; 2015. p 769-824
Furuichi Y, Hamada A, Nakazato K, Kobayashi K, Sakamoto A. Severe respiratory depression and bradycardia before induction of anesthesia and onset of Takotsubo cardiomyopathy after cardiopulmonary resuscitation. <i>J Clin Anesth</i> . 2016;35:275-277.
Garcia Civera R, Ruiz R, Morell S, Sanjuán R, Martinez J, Botella S, et al. Garcia Civera. <i>Electrofisiología cardíaca y ablación</i> . Madrid. McGraw-Hill-Interamericana;1999.
Glass PS, Gan TJ, Howel S. A review of the Pharmacokinetics and pharmacodinamics of Remitentanil. <i>Anesth Analg</i> 1999;89 (4Suppl): S7-14. (b)
Glass PS, Iselin-Chaves IA, Goodman D, Delong E, Hermann DJ. Determination of the potency of remifentanyl compared with alfentanil using ventilatory depression as the mesure of opioid effect. <i>Anesthesiology</i> 1999;90(6):1556-63. (a)

Glick DB. The autonomic nervous system. En Miller'S Anesthesia. Miller RD editor. Filadelfia. Elsevier Saunders; 2015. p 346-386
Goldstein DS, Robertson D, Esler M, Straus SE, and Eisenhofer G. Dysautonomias: clinical disorders of the autonomic nervous system. <i>Ann Intern Med</i> 137: 753–763, 2002.
Gómez-Arnau J, Márquez-Montes J, Avello F. Fentanyl and droperidol effects on the refractoriness of the accessory pathway in the Wolff-Parkinson-White syndrome. <i>Anesthesiology</i> 1983;58(4):307-13.
Graf BM, Vicenzi MN, Bosnjak ZJ, Stowe DF. The comparative effects of equimolar sevoflurane and isoflurane in isolated hearts. <i>Anesth Analg</i> . 1995;81(5):1026-32.
Greco M, Landoni G, Biondi-Zoccai G, Cabrini L, Ruggeri L, Pasculli N, Giacchi V, Sayeg J, Greco T, Zangrillo A. Remifentanil in cardiac surgery: a meta-analysis of randomized controlled trials. <i>J Cardiothorac Vasc Anesth</i> . 2012;26(1):110-6.
Green DH, Townsend P, Bagshaw O, Stokes MA. Nodal rhythm and bradycardia during inhalation induction with sevoflurane in infants: a comparison of incremental and high-concentration techniques. <i>Br J Anaesth</i> . 2000;85(3):368-70.
Guignard B, Bossard AE, Coste C, Sessler DI, Lebrault C, Alfonsi P, et al. Acute opioid tolerance: intraoperative remifentanil increases postoperative pain and morphine requirement. <i>Anesthesiology</i> 2000;93(2):409-17. (b)
Guignard B, Menigaux C, Dupont X, Fletcher D, Chauvin M. The effect of remifentanil on the bispectral index change and hemodynamic responses after orotracheal intubation. <i>Anesth Analg</i> 2000;90(1):161-7.
Gürkan A, Birgül Y, Ziya K. Direct cardiac effects in isolated perfused rat hearts of fentanyl and remifentanil. <i>Ann Card Anaesth</i> . 2005 Jul;8(2):140-4.
Guy J, Hindman BJ, Baker KZ, Borel Co, Maktabi M, Ostapovich N, et al. Comparison of remifentanil and fentanyl in patients undergoing craniotomy for supratentorial space-occupying lesions. <i>Anesthesiology</i> 1997;86(3):514-24.
Han DW, Park K, Jang SB, Kern SE. Modeling the effect of sevoflurane on corrected QT prolongation: a pharmacodynamic analysis. <i>Anesthesiology</i> . 2010;113(4):806-11.
Hayashi K, Tanaka A. Effect-site concentrations of remifentanil causing bradycardia in hypnotic and non-hypnotic patients. <i>J Clin Monit Comput</i> . 2016 ;30(6):919-924.
Hays FL, Webster AJ. Effects of cold, eating, efferent nerve stimulation and angiotensin on heart rate in sheep before and after autonomic blockade. <i>J Physiol</i> . 1971;216(1):21-38.
Hoffman WE, Cunningham F, James MK, Baughman VL, Albrecht RF. Effects of remifentanil, a new short-acting opioid, on cerebral blood flow, brain electrical activity, and intracranial pressure in dog anesthetized with isoflurane and nitrous oxide, <i>Anesthesiology</i> 1993;79(1):107-13.
Hoke JF, Shlugman D, Dershwitz M, Michałowski P, Malthouse-Dufore S, Connors PM, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of remifentanil in persons with renal failure compared with healthy volunteers. <i>Anesthesiology</i> 1997;87(3):533-41. (a)
Holmstrom A, Akeson J. Cerebral blood flow at 0.5 and 1 minimal alveolar concentrations of desflurane or sevoflurane compared with isoflurane in normoventilated pigs. <i>J Neurosurg Anesthesiol</i> 2003;15:90-7.

Horner SM, Murphy CF, Coen B, Dick DJ, Harrison FG, Vespalcova Z, Lab MJ. Contribution to heart rate variability by mechanoelectric feedback. Stretch of the sinoatrial node reduces heart rate variability. <i>Circulation</i> . 1996;1;94(7):1762-7.
Hu ZY, Lin PT, Liu J, Liao DQ. Remifentanil induces L-type Ca ²⁺ channel inhibition in human mesenteric arterial smooth muscle cells. <i>Can J Anaesth</i> 2008;55(4):238-44.
Ikeno S, Akazawa S, Shimizu R, Nakaigawa Y, Ishii R, Inoue S, Satoh M. Propofol does not affect the canine cardiac conduction system under autonomic blockade. <i>Can J Anesth</i> 1999; 46:148-53
Irisawa H, Hagiwara N. Ionic current in sinoatrial node cells. <i>J Cardiovasc Electrophysiol</i> 1991; 2:531
Irwin MG, Wong GT. Remifentanil and opioid-induced cardioprotection. <i>J Cardiothorac Vasc Anesth</i> . 2015 ;29 Suppl 1:S23-6.
James MK, Feldman PL, Schuster SV, Bilotta JM, Brackeen MF, Leighton HJ. Opioid receptor activity of GI 87084B, a novel ultra-short acting analgesic, in isolated tissues. <i>J Pharmacol Exp Ther</i> 1991;259(2):712-18.
James TN, Scherf L, Fine G, Morales AR. Comparative ultrastructure of the sinus node in man and dog. <i>Circulation</i> 1966;34(1): 39-63.
Janse MJ, Van Capelle FJ, Anderson RH, Touboul P, Billette J. Electrophysiology and structure of atrioventricular node of the isolated rabbit heart. En: Wellens HJJ, Lie KI, editors. The conduction system of the heart. Leiden: Stenfer Kroesse. 1976.p.296-315.
JCS Joint Working Group. Guidelines for diagnosis and treatment of patients with vasospastic angina (coronary spastic angina) (JCS 2008): digest version. <i>Circ J</i> . 2010;74(8):1745-62.
Jose AD and Taylor RR. Autonomic blockade by propranolol and atropine to study intrinsic myocardial function in man. <i>J Clin Invest</i> 48: 2019–2031, 1969.
Jose AD, Collison D. The normal range and determinants of the intrinsic heart rate in man. <i>Cardiovasc Res</i> . 1970 Apr;4(2):160-7.(b)
Jose AD, Stitt F, Collison D. The effects of exercise and changes in body temperature on the intrinsic heart rate in man. <i>Am Heart J</i> . 1970;79(4):488-98. (a)
Jose AD. Effect of combined sympathetic and parasympathetic blockade on heart rate and cardiac function in man. <i>Am J Cardiol</i> . 1966 ;18(3):476-8.
Josephson ME. Clinical Cardiac Electrophysiology. Techniques and interpretations. Lippincott Williams & Wilkins editores. Filadelfia. 2008.
Kamijo Y, Goto H, Nakazawa K, Benson KT, Arakawa K. Arterial baroreflex attenuation during and after continuous propofol infusion. <i>Can J Anaesth</i> 1992; 39: 987–91.
Kan RE, Hughes SC, Rosen MA, Kessin C, Preston PG, Lobo EP. Intravenous remifentanil: placental transfer, maternal and neonatal effects. <i>Anesthesiology</i> 1998;88(6): 1467-74.
Kannankeril PJ, Goldberger JJ. Parasympathetic effects on cardiac electrophysiology during exercise and recovery. <i>Am J Physiol Heart Circ Physiol</i> . 2002 Jun;282(6):H2091-8.
Kazmaier S, Haneckop G, Buhre W, Weyland A, Busch T, Radke OC, Zoelffel R, Sonntag H. Myocardial consequences of remifentanil in patients with coronary artery disease. <i>Br J Anaesthesia</i> 2000;84(5):578-83.
Kent KM, Cooper T. The denervated heart. A model for studying autonomic

control of the heart. N Engl J Med. 1974, 7;291(19):1017-21.
Kim ES, Chang HW. The effects of a single bolus of remifentanil on corrected QT interval change during sevoflurane induction. Yonsei Med J. 2011;52(2):333-8.
Klemola UM, Hiller A. Tracheal intubation after induction of anesthesia in children with propofol-remifentanil or propofol-rocuronium. Can J Anaesth 2000; 47(9):854-9.
Kojima A, Ito Y, Kitagawa H, Matsuura H, Nosaka S. Remifentanil has a minimal direct effect on sinoatrial node pacemaker activity in the Guinea pig heart. Anesth Analg. 2013;117(5):1072-7.
Komatasu R, Turan AM, Orhan-Sungur M, McGuire J, Radke OC, Apfel CC. Remifentanil for general anaesthesia: a systematic review. Anaesthesia 2007; 62(12):1266-80
Konishi T. Electrophysiological considerations on sick sinus syndrome. Jpn Circ J 1976; 40(3): 194-201.
Kriatselis HD, Goehl K, Richter P, Helbig S, Sindermann J, Gottwik M. Radiofrequency energy modification of the atrioventricular junction in patients with atrial fibrillation: modes of ventricular response under autonomic blockade and long-term effect. Pacing Clin Electrophysiol. 2001 Sep;24(9 Pt 1):1312-20.
Kristensen SD, Knuuti J, Saraste A, Anker S, Bøtker HE, Hert SD et al. Guía de práctica clínica de la ESC/ESA 2014 sobre cirugía no cardíaca: evaluación y manejo cardiovascular. Rev Esp Cardiol. 2014;67:1052.e1-e43
Kundra P, Vinodhadevi V, Arimanickam G. Sevoflurane-induced arrhythmia in an adult and a child. J Anaesthesiol Clin Pharmacol. 2011;27(2):269-71.
Kurdi O, Deleuze A, Marret E, Bonnet F. Asystole during anaesthetic induction with remifentanil and sevoflurane. Br J Anaesth 2001; 87(6):943.
Kweon TD, Nam SB, Chang CH, Kim MS, Lee JS, Shin CS, June DB, Han DW. The effect of bolus administration of remifentanil on QTc interval during induction of sevoflurane anaesthesia. Anaesthesia. 2008 ;63(4):347-51.
Lang E, Kapila A, Shlugman D, Hoke JF, Sebel PS, Glass PS. Reduction of isoflurane minimal alveolar concentration by remifentanil. Anesthesiology 1996;85(4):721-8.
Lange G. Actions of driving stimuli from intrinsic and extrinsic sources on in situ cardiac pacemaker tissues. Circ Res 1965;17(5):449-59.
Lange G. Actions of driving stimuli from intrinsic and extrinsic sources on in situ cardiac pacemaker tissues. Circ Res 1965;17(5):449-59.
Lankhorst S, Keet SW, Bulte CS, Boer C. The impact of autonomic dysfunction on peri-operative cardiovascular complications. Anaesthesia. 2015; 70:336-43.
Latson TW, Ashmore TH, Reinhart DJ, Klein KW, Giesecke AH. Autonomic reflex dysfunction in patients presenting for elective surgery is associated with hypotension after anesthesia induction. Anesthesiology. 1994;80:326-37.
Latson TW, Ashmore TH, Reinhart DJ, Klein KW, Giesecke AH. Autonomic reflex dysfunction in patients presenting for elective surgery is associated with hypotension after anesthesia induction. Anesthesiology. 1994;80:326-37.
Lawson NW, Johnson JO. Autonomic nervous system: physiology and pharmacology En: P.G. Barash, B.F. Cullen and RK Stoelting, editores. En Clinical Anesthesia. Filadelfia. Lippincott Williams & Wilkins ; 2001. p.261-325.
Liu WS, Bidway AV, Stanley TH, Isern-Amaral J. Cardiovascular dynamics after large doses of fentanyl and fentanyl plus N2O in the dog. Anesth Analg. 1976; 55(2): 168-72.

López Merino V, Ferrero JA. Conducción auriculoventricular normal. Propiedades funcionales del Sistema de Conducción Humano. En García Civera R, Sanjuán R, Llavador J , editors. Electrofisiología Cardíaca Clínica. Barcelona: Sandoz; 1997.p.47-72.
Lu Z, Scherlag BJ, Lin J, Niu G, Fung KM, Zhao L, Ghias M, Jackman WM, Lazzara R, Jiang H, Po SS. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation: autonomic mechanism for atrial electrical remodeling induced by short-term rapid atrial pacing. <i>Circ Arrhythm Electrophysiol</i> . 2008 ;1(3):184-92.
Mandel W, Hayakawa H, Danzig R, Marcus HS. Evaluation of sino-atrial node function in man by overdrive suppression. <i>Circulation</i> 1971;44(1):59-66.
Mangano DT, Siliciano D, Hollenberg M, Leung JM, Browner WS, Goehner P, et al. Postoperative myocardial ischemia. Terapeutic trial using intensive analgesia following surgery. The Study of Perioperative Ischemia (SPI) Research Group. <i>Anesthesiology</i> 1992;76(3):342-53.
Meissner A, Eckardt L, Kirchhof P, Weber T, Rolf N, Breithardt G, Van Aken H, Haverkamp W. Effects of thoracic epidural anesthesia with and without autonomic nervous system blockade on cardiac monophasic action potentials and effective refractoriness in awake dogs. <i>Anesthesiology</i> . 2001 ;95(1):132-8.
Miller JM y Zipes DP. Diagnóstico de las arritmias cardíacas. En Braunwald Tratado de Cardiología. Texto de medicina cardiovascular. Braunwald E editor. Tratado de Cardiología. Barcelona. Elsevier España SL; 2013. p 693-715
Minto CF, Schnider TW, Egan TD, Youngs E, Lemmens HJ, Gambus PL, et al. Influence of age and gender on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of remifentanil. I. Model development. <i>Anesthesiology</i> 1997; 86: 10-23.
Möllhoff T, Herregods L, Moerman A, Blake D, MacAdams C, Demeyere R, Kirno K, Dybvik T, Shaikh S and the Remifentanil Study Group. Comparative efficacy and safety of remifentanil and fentanyl I “fast track” coronary artery bypass graft surgery: a randomized, double-blind study. <i>Br J Anaesth</i> 2001; 87(5):718-26.
Moore K, Howie MD, Jopling MW, Lanzerotte MJ, Romanelli VA, Kelly WB. EEG characteristics during continuous infusion of remifentanil for CABG surgery (abstract). <i>Anesthesiology</i> 1995; 83: A377.
Morady F, DiCarlo L.A, Halter J.B, Buitler M, Krol R.B, Baerman J.M. The Plasma Catecholamine Response to Ventricular Tachycardia Induction and External Countershock During Electrophysiologic Testing. <i>J Am Coll Cardiol</i> 1986; 8:584-91
Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. <i>Circulation</i> . 1986 ;74(5):1124-36.
Myerburg RJ. The gating mechanism in the distal atrioventricular conducting system. <i>Circulation</i> 1971;43(6):955-60.
Nakaigawa Y, Akazawa S, Shimizu R, Ishii R, Yamato R. Comparison of the Effects of Halothane, Isoflurane, and Sevoflurane on Atrioventricular Conduction Times in Pentobarbital-Anesthetized dogs. <i>Anesth Analg</i> 1995;81:249-53.
Narciso BB, Fernandez CJ, Garrote JA, Baselga MJ, Garcia MZ. Effects of remifentanil on the cardiac conduction system. Our experience in the study of remifentanil electrophysiological properties. <i>Curr Pharm Des</i> . 2014;20(34):5489-96.
Narula OS, Samet P, Javier RP. Significance of the sinus node recovery time. <i>Circulation</i> . 1972;45(1):140-58.

Narula OS, Shantho N, Vasquez M, Towne WD, Linhart JW. A new method for measurement of sinoatrial conduction time. <i>Circulation</i> 1978;58(4):706-14.
Nayebpour M, Talajic M, Nattel S. Effects of beta-adrenergic receptor stimulation and blockade on rate-dependent atrioventricular nodal properties. <i>Circ Res.</i> 1992;70(5):902-11.
Nieto J, Gascón D, Vázquez R, Errazquin F. Estudio comparativo de la conducción ventrículo-auricular. En: García Civera R, Cabadés A, Cosín J editors. <i>Automatismo y conducción</i> . Barcelona: MCR; 1987.p. 313-23.
Niksch A, Liberman L, Clapcich A, Schwarzenberger J, Silver E, Pass R. Effects of remifentanil anaesthesia on cardiac electrophysiologic properties in children undergoing catheter ablation of supraventricular tachycardia. <i>Pediatr Cardiol</i> 2010;31:1079-1082.
Noda T, Shimizu W, Taguchi A, Satomi K, Suyama K, Kurita T, Aihara N, Kamakura S. ST-segment elevation and ventricular fibrillation without coronary spasm by intracoronary injection of acetylcholine and/or ergonovine maleate in patients with Brugada syndrome. <i>J Am Coll Cardiol.</i> 2002, 20;40(10):1841-7.
Ogawa Y, Iwasaki K, Shibata S, Kato J, Ogawa S, Oi Y. Different effects on circulatory control during volatile induction and maintenance of anesthesia and total intravenous anesthesia: autonomic nervous activity and arterial cardiac baroreflex function evaluated by blood pressure and heart rate variability analysis. <i>J Clin Anesth.</i> 2006;18:87-95.
Ortiz Guzmán JE, Mendoza Romero D, Calderón CA, Urbina A. Spectral analysis of heart rate variability in trained young men: comparison of endurance and resistance training. <i>Apunts Medicina de l' Esport (English Edition).</i> 2012;47(174):41-7.
Ostapkovich ND, Baker KZ, Fogarty-Mack P, Sisti MB, Young WL. Cerebral blood flow and CO2 reactivity is similar during remifentanil/N2O and fentanyl/N2O anesthesia. <i>Anesthesiology</i> 1998;89(2):358-63.
Picard G, Tan CO, Zafonte R, Taylor JA. Incongruous changes in heart period and heart rate variability with vagotonic atropine: implications for rehabilitation medicine. <i>PM R.</i> 2009;1(9):820-6.
Pitsiu M, Wilmer A, Boderham A, Breen D, Bach V, Bonde J, et al. Pharmacokinetics of remifentanilo acid, in ICU patients with renal impairment. <i>Br J Anaesth</i> 2004;92(4):493-503.
Pop-Busui R. Cardiac autonomic neuropathy in diabetes: a clinical perspective. <i>Diabetes Care.</i> 2010;33:434-41.
Rangari M, Sinha S, Kapoor D, Mohan JC, Sarin SK. Prevalence of autonomic dysfunction in cirrhotic and noncirrhotic portal hypertension. <i>Am J Gastroenterol.</i> 2002 Mar;97(3):707-13.
Reid JE, Mirakhur RK. Bradycardia after administration of remifentanyl. <i>Br J Anaesth.</i> 2000;84(3):422-3.
Reitan JA, Stenger KB, Wymore MC, Martucci RW. Central vagal control of fentanyl-induced bradycardia during halothane anesthesia. <i>Anesth Analg.</i> 1978; 57(1): 31-6.
Rivard JC, Lebowitz PW. Bradycardia after alfentanilo-succinylcholine. <i>Anesth Analg</i> 1988;67(9):907.
Rodríguez Pérez E, Benito Bartolomé F, Sanabria Carretero P, Sánchez Fernández C, Jiménez Mateos E, Goldman Tarlovsky L. Efectos electrofisiológicos del sevoflurano versus propofol en niños con síndrome de

Wolff-Parkinson-White. Rev Esp Anesthesiol Reanim 2008; 55:26-31.
Rubart M y Zipes DP. Génesis de las arritmias cardíacas: aspectos electrofisiológicos. En Braunwald Tratado de Cardiología. Texto de medicina cardiovascular. Braunwald E editor. Tratado de Cardiología. Barcelona. Elsevier España SL; 2013. p 659-692.
Saeki T, Nishimura M, Sato N, Fujinami T, Watanabe Y. Electrophysiological demonstration and activation of mu opioid receptors in the rabbit sinoatrial node. J Cardiovasc Pharmacol 1995;26(1):160-8.
Sano T, Yamagishi S. Spread of excitation from the sinus node. Circ Res 1965; 16: 423-30.
Sato M, Tanaka M, Umehara S, Nishikawa T. Baroreflex control of heart rate during and after propofol infusion in humans. Br J Anaesth. 2005 May;94(5):577-81.
Scherlag BI, Lau SH, Helfant RH, Berkowitz WD, Stein E, Damato AN. Catheter technique for recording His Bundle activity in man. Circulation 1969; 39(1):13-8.
Schraag S, Kenny GN, Mohl U, Georgieff M. Patient-maintained remifentanil target-controlled infusion for the transition to early postoperative analgesia. Br J Anaesth 1998;81(3): 365-8.
Schwartz PJ, La Rovere MT, Vanoli E. Autonomic nervous system and sudden cardiac death. Experimental basis and clinical observations for post-myocardial infarction risk stratification. Circulation. 1992;85(1 Suppl):I77-91.
Sebel PS, Hoke JF, Westmoreland C, Hug CC Jr, Muir KT, Szlam F. Histamine concentrations and hemodynamics responses after remifentanil. Anesth Analg 1995;80(5):990-3.
Sharpe MD, Dobkowski W, Murkin JM, Klein G, Yee R. Electrophysiologic effects of volatile anesthetics and sufentanil on the normal atrioventricular conduction system and accessory pathways in Wolff-Parkinson-White syndrome. Anesthesiology 1994;80(1):63-70.
Sharpe MD, Dobkowski WB, Murkin JM, Klein G, Guirandon G, Yee R. Alfentanil-midazolam has no electrophysiological effects upon the normal conduction system or accessory pathways in patient with Wolff-Parkinson-White syndrome. Can J Anaesth 1992; 39(8):816-21.
Sharpe MD, Dobkowski WB, Murkin JM, Klein G, Yee R. Propofol has no direct effect on sinoatrial node function or on normal atrioventricular and accessory pathway conduction in Wolff-Parkinson-White syndrome during alfentanil/midazolam anesthesia. Anesthesiology 1995;82:888-95.
Sharpe, MD, Cuillerier DJ, Lee JK, Basta M, Krahn AD, Klein GJ, et al. Sevoflurane has no effect on sinoatrial node function or on normal atrioventricular and accessory pathway conduction in Wolff-Parkinson-White Syndrome during alfentanil/midazolam anesthesia. Anesthesiology 1999;90(1):60-65.
Shinohara K, Aono H, Unruksakul G, Kindscher JD, Goto H. Suppressive effects of remifentanil on hemodynamics in baro-denervated rabbits. Can J Anesth 2000;47(4):361-6.
Shinohara K, Aono H, Unruksakul G, Kindscher JD, Goto H. Suppressive effects of remifentanil on hemodynamics in baro-denervated rabbits. Can J Anesth 2000;47(4):361-6.
Sodi Pallarés D, Rodríguez MJ, Chaid LO et al. The activation of the intraventricular septum. Am Heart J 1951;41(4):569-81.

Staikou C, Stamelos M, Stavroulakis E. Impact of anaesthetic drugs and adjuvants on ECG markers of torsadogenicity. <i>Br J Anaesth</i> . 2014;112(2):217-30.
Stiller RL, Davis PJ, McGowan FX, Scierka A, Gupta S, Muir K. In vitro metabolism of remifentanyl: the effects of pseudocholinesterase deficiency. <i>Anesthesiology</i> 1995; 83:A381.
Stout CW, Maron BJ, Vanderbrink BA, Estes NA 3rd, Link MS. Importance of the autonomic nervous system in an experimental model of commotio cordis. <i>Med Sci Monit</i> . 2007;13(1):BR11-5.
Strauss HC, Saroff AL, Bigger JT Jr, Giardina EG. Premature atrial stimulation as a key to the understanding of sinoatrial conduction in man. Presentation of data and critical review of the literature. <i>Circulation</i> 1973;47(1):86-93.
Sundaram S, Carnethon M, Polito K, Kadish AH, Goldberger JJ. Autonomic effects on QT-RR interval dynamics after exercise. <i>Am J Physiol Heart Circ Physiol</i> . 2008 ;294(1):H490-7.
Talajic M, Nattel S. Frequency-dependent effects of calcium antagonists on atrioventricular conduction and refractoriness: demonstration and characterization in anesthetized dogs. <i>Circulation</i> . 1986 ;74(5):1156-67.
Tanaka M, Nishikawa T. Sevoflurane speeds recovery of baroreflex control of heart rate after minor surgical procedures compared with isoflurane. <i>Anesth Analg</i> 1999; 89: 284–9.
Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. <i>Circulation</i> 1996;93:1043–65.
Taylor B, MacEwen P. Asystole after alfentanil-succinylcholine. <i>Can J Anaesth</i> 1989; 36(2):255-6.
Tirel O, Chavanaz C, Bansard J.Y, Carré F, Ecoffey C, Senhadji L, Wodey E. Effect of remifentanyl with and without atropine on heart rate variability and RR interval in children. <i>Anaesthesia</i> 2005;60(10):982-9.
Tonkin AM, Tornos P, Heddle WF, Rapp H. Autonomic effects on the human cardiac conduction system. Evaluation by intracardiac electrocardiography and programmed stimulation techniques. <i>Br Heart J</i> 1980;44(2):168-74.
Toski JA, Bacon DR, Calverley RK. The History of Anesthesiology. En: P.G. Barash, B.F. Cullen and RK Stoelting, editores. En <i>Clinical Anesthesia</i> . Filadelfia. Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 3-24.
Unlügenç H, İtegin M, Ocal I, Ozalevli M, Güler T, Işık G. Remifentanyl produces vasorelaxation in isolated rat thoracic aorta strips. <i>Acta Anaesthesiol Scand</i> . 2004;48(6):797.
Valentín V, Gimeno JV, Insa L, Chorro FJ. Influencia del sistema nervioso autónomo sobre la conducción auriculoventricular. En: García Civera R, Cabadés A, Cosín J, editors. <i>Automatismo y conducción</i> . Barcelona: MCR; 1987.p. 325-45.
Verheijck EE, Wessels A, van Ginneken AC, Bourier J, Markman MW, Vermeulen JL, et al. Distribution of atrial and nodal cells within the rabbit sinoatrial node. Models of sinoatrial transition. <i>Circulation</i> 1998 28; 97(16):1623-31.
Wang JY, Winship SM, Thomas SD, Gin T, Rusell GN. Induction of anaesthesia in patients with coronary artery disease: a comparison between sevoflurane-remifentanyl and fentanyl-etomidate. <i>Anaesth Intensive Care</i>

1999;27(4):363-8.
Wang JY, Winships SM, Russell G. Induction of anesthesia with sevoflurane and low dose remifentanil: asystole following laryngoscopy. <i>Br J Anaesth</i> 1998;81(6):994-5.
Westmoreland CL, Hoke JF, Sebel PS, Hug CC Jr, Muir KT. Pharmacokinetics of remifentanil (GI87084B) and its mayor metabolite (GI90291) in patients undergoing elective inpatient surgery. <i>Anesthesiology</i> 1993;79(5):893-903.
Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Power J, Allesie MA. Electrical remodeling due to atrial fibrillation in chronically instrumented conscious goats: roles of neurohumoral changes, ischemia, atrial stretch, and high rate of electrical activation. <i>Circulation</i> . 1997 Nov 18;96(10):3710-20.
Williams H, Spoelstra C. Use of remifentanyl in fast atrial fibrillation. <i>Br J Anaesth</i> 2002; 84(4): 614.
Wong GT, Huang Z, Ji S, Irwin MG. Remifentanil reduces the release of biochemical markers of myocardial damage after coronary artery bypass surgery: a randomized trial. <i>J Cardiothorac Vasc Anesth</i> . 2010;24(5):790-6.
Workman AJ. Cardiac adrenergic control and atrial fibrillation. <i>Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol</i> . 2010;381:235-49.
Wujtewicz MA, Hasak L, Twardowski P, Zabul E, Owczuk R. Evaluation of the relationship between baseline autonomic tone and the vagotonic effect of a bolus dose of remifentanil. <i>Anaesthesia</i> . 2016;71(7):823-8.
Xiao RP, Spurgeon HA, Capogrossi MC, Lakatta EG: Stimulation of opioid receptors on cardiac ventricular myocytes reduces L-type Ca ²⁺ channel current. <i>J Mol Cell Cardiol</i> . 1993; 25:661–6.
Yasue H, Horio Y, Nakamura N, Fujii H, Imoto N, Sonoda R, Kugiyama K, Obata K, Morikami Y, Kimura T. Induction of coronary artery spasm by acetylcholine in patients with variant angina: possible role of the parasympathetic nervous system in the pathogenesis of coronary artery spasm. <i>Circulation</i> . 1986;74(5):955-63.
Zaballos M, Almendral J, Anadón MJ, González P, Navia J. Comparative effects of thiopental and propofol on vulnerability: electrophysiological study in a porcine model including acute alcoholic intoxication. <i>Br J Anaesthesia</i> 2004;93(3):414-21.
Zaballos M, Jimeno C, almendral J, Atienza F, Patiño D, Valdes E, et al. Cardiac electrophysiological effects of remifentanil: study in a closed-chest porcine model. <i>Br J Anaesth</i> 2009;103(2):191-8.
Zhang J, Hua D, Deng D, Meng D, Zhang Y, Dai J, Tu W. The relationship between functional capacity (FC) and cardiac autonomic nervous dysfunction to surgery stress in senile patients. <i>Arch Gerontol Geriatr</i> . 2011;53(1):95-9.
Zhang Y, Irwin MG, Wong TM, Chen M, Cao CM. Remifentanil preconditioning confers cardioprotection via cardiac kappa- and delta-opioid receptors. <i>Anesthesiology</i> . 2005;102(2):371-8.
Zhang Y, Irwin MG, Wong TM. Remifentanil preconditioning protects against ischemic injury in the intact rat heart. <i>Anesthesiology</i> . 2004;101(4):918-23.
Zhong Y, Jan KM, Ju KH, Chon KH. Quantifying cardiac sympathetic and parasympathetic nervous activities using principal dynamic modes analysis of heart rate variability. <i>Am J Physiol Heart Circ Physiol</i> . 2006;291(3):H1475-83.
Zipes DP. Genesis of cardiac arrhythmias: electrophysiological considerations. <i>En Braunwald. Heart Disease. A textbook of cardiovascular medicine</i> . W.B. Saunders Company. Filadelfia, 1997, p.548-592.

